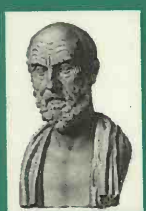
Eusebiu Vlad Gorduza

COMPENDIU DE GENETICĂ UMANĂ ȘI MEDICALĂ



ΙΠΠΟΚΡΑΤΗΣ

25

editura Tehnopress

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

III-12.285

EUSEBIU VLAD GORDUZA

Acu III – 12.285
43 Lei

COMPENDIU

DE

GENETICĂ

UMANĂ ȘI MEDICALĂ

Colaboratori:
Ortansa Felicia Stoica
Elena Emanuela Braha
Lăcrămioara Butnariu

editura
Tehnopress
IAȘI

659775
BCU IAȘI

BCU IAȘI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

acu
B.C.U. „M. EMINESCU" IAȘI
BIOLOGIE
25 MAY 2010

Contribuția autorilor la această lucrare a fost:

Șef lucr. dr. Eusebiu Vlad Gorduza
- Coordonator al lucrării;
- Autor al capitolelor **1, 2, 4, 5, 6, 9, 10, 11, 12, 15, 16;**
- Coautor la capitolele **3, 7, 8, 13, 14**

Prof. dr. Ortansa Felicia Stoica:
- Coautor la capitolele **3, 7, 8, 14**

Asist. univ. dr. Elena Emanuela Braha:
- Coautor la capitolul **13**

Asist. univ. drd. Lăcrămioara Butnariu:
- Coautor la capitolul **13**

EDITURA TEHNOPRESS
Str. Zimbrului nr.17
700047 Iași
Tel./fax: 0232 260092
E-mail: office@tehnopress.ro
http://www.tehnopress.ro
EDITURĂ ACREDITATĂ CNCSIS

Descrierea CIP a Bibliotecii Naționale a României
GORDUZA, EUSEBIU VLAD
Compendiu de genetică umană și medicală / Eusebiu Vlad Gorduza. – Iași: Tehnopress, 2007

Bibliogr.
ISBN 978-973-702-492-3

575:61

EDITAT CU SPRIJINUL AUTORITĂȚII NAȚIONALE PENTRU CERCETARE ȘTIINȚIFICĂ

ISBN 978-973-702-492-3

BCU IAȘI / CENTRALA UNIVERSITY LIBRARY

PREFAȚĂ

Realizările din domeniul geneticii umane, încununate de numeroase premii Nobel, au revoluționat medicina, argumetând rolul factorilor ereditari în determinismul bolilor umane, ceea ce explică ritmul alert de dezvoltare a geneticii medicale.

Implementarea genomicii şi imperativele erei postgenomice au generat mutații majore în gândirea medicală în termeni de: transcriptomică, proteomică, metabolomică, nutrigenomică şi farmacogenomică.

Dezvoltarea geneticii umane nu a rămas cantonată doar la nivel teoretic, fiind din ce în ce mai mult aplicată în toate domeniile medicinei.

Este evident, că în condițiile în care orice afecțiune umană are o componentă ereditară, mai mult sau mai puțin importantă, descoperirile geneticii moderne pot modifica major diagnosticul, profilaxia şi, în perspectivă, terapia unor maladii grave.

Astfel, medicina viitorului va fi, indubitabil, medicina moleculară, în care fiecare afecțiune va fi abordată personalizat, iar fiecare pacient va fi tratat individualizat, în raport cu moştenirea sa genetică.

În acest context, Şcoala medicală este chemată să ofere continuu, de manieră clară, concisă şi actualizată, un quantum adecvat de noțiuni şi informații, racordat la problemele cotidiene ale practicii clinice.

Este locul şi momentul să amintim că o apariție de referință în domeniu este tratatul „***Genetică Medicală***", elaborat în coordonarea ştiințifică a distinsului Prof. univ. dr. **Mircea Covic**, editat în 2004. Acest magistral tratat a sistematizat datele de genetică umană şi medicală, constituind un exemplu de abordare exhaustivă şi o premieră în literatura medicală românească. Totuşi, tratarea maximală a problemelor de genetică incumbă anumite dificultăți de asimilare pentru studenți şi medici de diferite specialități.

CAROL DAVILA UNIVERSITY LIBRARY

Lucrarea „*Compendiu de Genetică umană şi medicală*" este un instrument util pentru iniţierea medicilor şi studenţilor în domeniul geneticii, constituind un stimulent pentru structurarea unui mod sistemic de gândire medicală. Ea oferă studenţilor, în principal de la specializările pentru care genetica este domeniu conex (Farmacie, Medicină dentară, Colegiul de asistenţi de medicină etc.) noţiunile de bază, într-o abordare coerentă, sinoptică şi concisă.

Nu este de neglijat faptul că prezenta lucrare integrează elementele de specialitate consacrate cu actualităţi de genetică medicală, la nivelul anului 2006.

Cartea de faţă încearcă să prezinte logic, clar, sintetic şi accesibil problematica extrem de complexă a geneticii umane şi medicale, iar autorul speră să aibă bucuria ca acest demers să fie valorificat de cât mai mulţi cititori.

Profit de această ocazie să aduc mulţumiri celor trei colaboratori care m-au ajutat să finalizez această lucrare: **Prof. Dr. Ortansa Felicia Stoica, Asist. Dr. Elena Emanuela Stoica, Asist. Drd. Lăcrămioara Butnariu.**

Dedic această lucrare celor care au contribuit la formarea mea profesională şi m-au încurajat pe parcursul descifrării secretelor acestui fascinant domeniu, care este genetica medicală.

Şef lucrări dr. Eusebiu Vlad Gorduza

Iaşi, decembrie 2007

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

I. INTRODUCERE

Genetica este ştiinţa eredităţii şi variabilităţii.

Ereditatea este proprietatea unui individ de a transmite la descendenţi, prin intermediul cromosomilor din gameţi, a caracterelor speciei din care face parte, precum şi a unei părţi din caracterele personale.

Ereditatea este un proces informaţional de stocare, transmitere şi exprimare a informaţiei genetice care asigură formarea caracterelor morfofuncţionale specifice unui individ.

Substratul material al eredităţii este molecula de **acid deoxiribonucleic - ADN**. Acesta asigură: *stocarea, exprimarea şi transmiterea* informaţiei genetice (figura I.1.).

Stocarea informaţiei genetice este realizată sub formă codificată. Unitatea de cod genetic este **codonul** sau **tripletul**. Acesta este constituit dintr-o succesiune de trei nucleotide învecinate din structura ADN-ului, nucleotidul reprezentând unitatea structurală de bază a ADN-ului. Fiecare nucleotid conţine trei elemente: **o moleculă de deoxiriboză, o bază azotată şi un rest de acid ortofosforic.**

Bazele azotate din structura ADN-ului sunt de două tipuri: *purinice*, reprezentate de adenină (A) şi guanină (G) şi *pirimidinice*, reprezentate de citozină (C) şi timină (T).

Prin combinarea celor patru baze azotate luate câte trei se pot forma 64 de codoni diferiţi. Dintre aceştia 61 au dfuncţie codantă, conţinând informaţia genetică corespunzătoare unuia din cei 20 de aminoacizi din structura proteinelor, iar 3 nu au funcţie codantă, reprezentând semnale de oprire a citirii informaţiei genetice.

Exprimarea informaţiei genetice se face prin două procese corelate funcţional: transcripţia şi translaţia.

Transcripţia este procesul de copiere a informaţiei genetice prezentă într-un segment al uneia din cele două catene ale moleculei de ADN. În urma acestui proces, desfăşurat în nucleul celulei, rezultă o moleculă de *acid ribonucleic mesager – ARNm*. ARNm părăseşte nucleul, trece în citoplasmă şi ajunge la nivelul ribosomilor.

Translaţia se desfăşoară la nivelul ribosomilor şi constă în decodificarea informaţiei genetice conţinută de ARNm. Prin acest proces rezultă o moleculă peptidică, a cărui secvenţă de aminoacizi corespunde succesiunii nucleotidelor din molecula de ARNm.

BCU "VICTOR BABEŞ" LIBRARY

Transmiterea informaţiei genetice se face prin două procese corelate: replicarea ADN-ului şi diviziunea celulei ± fecundarea gameţilor.

Replicarea ADN-ului reprezintă procesul de autocopiere a informaţiei genetice a celor două catene ale moleculei de ADN. Fiecare din cele două catene serveşte ca matriţă pentru sinteza unei noi catene de ADN şi se va regăsi în structura moleculei noi de ADN. Datorită acestei particularităţi replicarea ADN-ului este un proces semiconservativ, iar fiecare moleculă de ADN nou sintetizată va avea o catenă veche şi una nouă de ADN.

Diviziunea celulei este procesul de împărţiere totală şi egală a materialului genetic al unei celule cu formarea a două celule noi, celule fiice. Există două tipuri de diviziune: mitoza şi meioza.

Mitoza este caracteristică celulelor somatice şi asigură transmiterea informaţiei genetice în succesiunea de generaţii celulare ale aceluiaşi organism. Celulele fiice rezultate prin mitoză sunt identice cu celula de origine.

Meioza este caracteristică gonadelor (testiculi şi ovare) şi asigură formarea celulelor sexuale mature (spermatozoizi şi ovule). Celulele rezultate prin meioză nu sunt identice datorită proceselor de recombinare genetică ce se desfăşoară în cursul acestei diviziuni.

Fecundarea este procesul de unire a informaţiei genetice a unui spermatozoid cu cea a unui ovul. Prin fecundare rezultă zigotul (celula ou) care constituie prima celulă a unui nou organism.

Meioza şi fecundarea asigură transmiterea informaţiei genetice în succesiunea generaţiilor de organisme.

Variabilitatea genetică constituie ansamblul fenomenelor genetice care asigură apariţia diferenţelor dintre indivizii aceleiaşi populaţii şi cele dintre populaţii diferite. Variabilitatea genetică este asigurată de trei fenomene: recombinările genetice, mutaţiile şi migraţiile.

Recombinarea genetică este un proces genetic *normal,* care se desfăşoară în cursul meiozei şi al fecundării. În meioză se produc două tipuri de recombinare genetică: *intra- şi intercromosomică*. Aceste recombinări asigură apariţia diferenţelor dintre gameţi. Pe parcursul fecundării se produce *recombinarea genomică* prin unirea materialului genetic al ovulului şi spermatozoidului. Fecundarea asigură formarea unui organism nou, **unic** şi **irepetabil**, care are o structură genetică ce combină caractere moştenite de la mamă şi caractere moştenite de la tată.

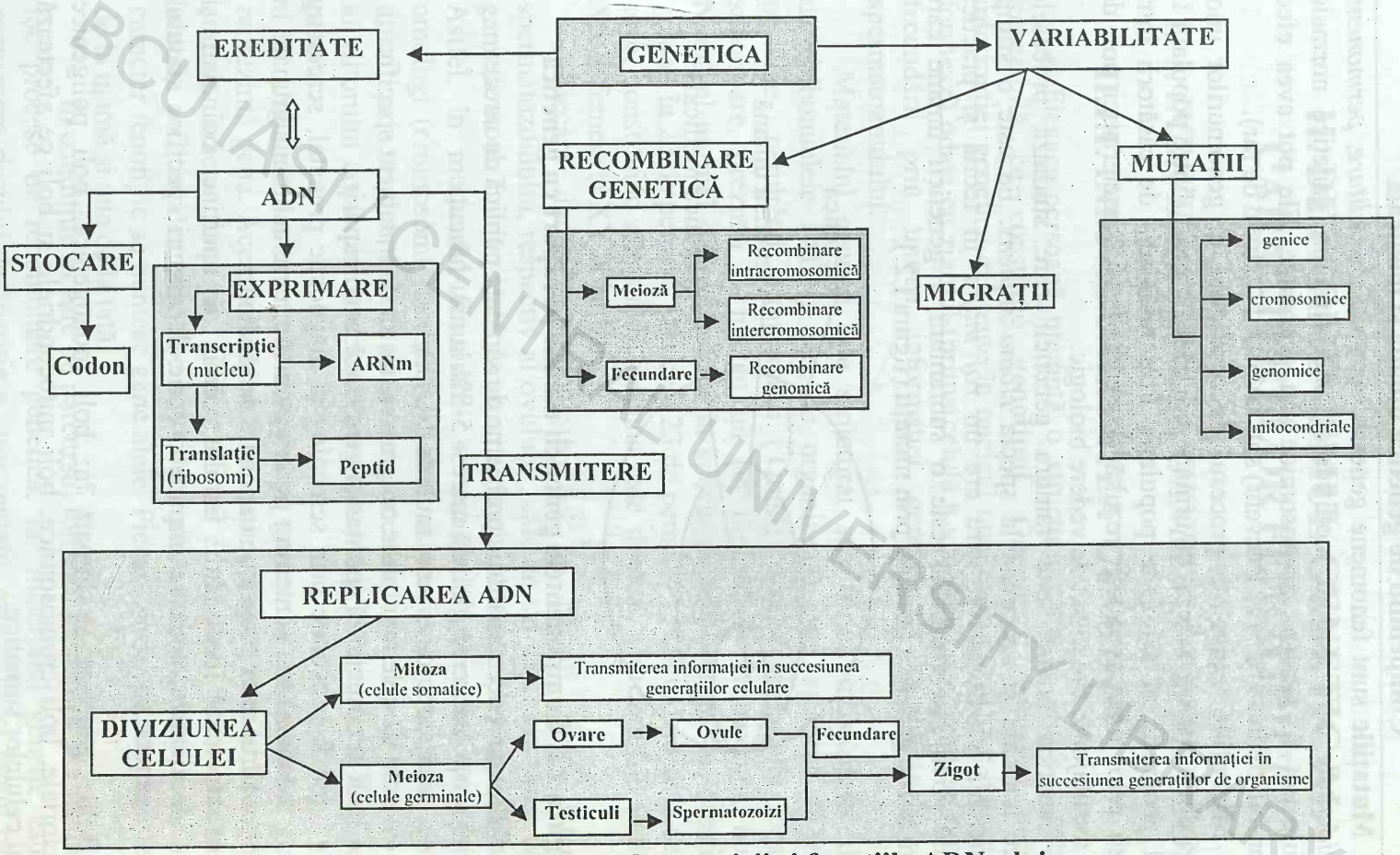


Figura I.1. Componentele geneticii şi funcțiile ADN-ului

BCU IAȘI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Mutaţiile sunt fenomene genetice *anormale*, *ereditare, permanente* şi *accidentale* care asigură modificarea unei structuri genetice normale. Mutaţiile pot fi: genice, cromosomice sau genomice. Ele pot avea efect defavorabil, neutru (cel mai frecvent) sau favorabil (extrem de rar).

Migraţiile reprezintă procesul de combinare al genomurilor unor indivizi din populaţii diferite ca urmare a deplasării uneia dintre populaţii în arealul geografic al celeilalte populaţii. Prin realizarea de căsătorii între indivizii celor două populaţii rezultă descendenţi cu caracteristici noi, de regulă avantajoase din punct de vedere biologic.

Genetica umană este ramura geneticii care studiază procesele genetice normale şi anormale la specia *Homo sapiens*. Ea este o ştiinţă fundamentală şi aplicativă, care are un *rol major* în teoria şi practica medicală. Genetica medicală este o subramură a geneticii umane care studiază bolile genetice produse prin mutaţii (figura I.2.).

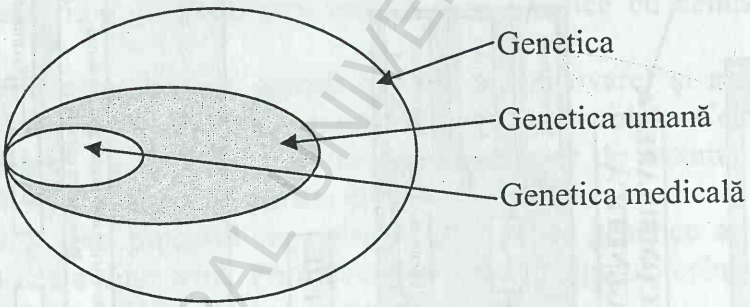


Figura I.2. Componentele geneticii umane în raport cu genetica

Bolile genetice constituie probleme de sănătate publică deoarece:

- au o frecvenţă globală mare – 5-8% la nou-născuţi
- sunt numeroase –mai mult de 10.000;
- sunt de cele mai multe ori grave şi nu au un tratament specific;
- nu se corectează spontan şi generează handicapuri;
- pot fi prevenite prin screening şi diagnostic prenatal, screening neonatal sau screening presimptomatic, care ar trebui grupate în cadrul unor programe naţionale de sănătate;
- afectează individul, familia căreia îi aparţine bolnavul şi societatea, ceea ce impune o serie de măsuri specifice sfatului genetic.

Bolile genetice se împart în: boli monogenice, boli poligenice multifactoriale, boli cromosomice, boli mitocondriale şi boli ce afectează genomul celulelor somatice.

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

B.C.U. „M. EMINESCU" IAȘI
BIOLOGIE

II. DETERMINISMUL GENETIC AL CARACTERELOR FENOTIPICE

II.1. INDIVIDUALITATEA GENETICĂ ŞI BIOLOGICĂ

II.1.1. INDIVIDUALITATEA GENETICĂ

Fiecare persoană prezintă o structură genetică unică, constantă şi irepetabilă ce constituie **genotipul**. Genotipul reprezintă totalitatea informației genetice existente în nucleul unei celule somatice. Genotipul se formează odată cu zigotul (prima celulă a viitorului organism) în momentul fecundării prin unirea informației genetice a ovulului cu cea a spermatozoidului.

Materialul genetic este structurat sub forma moleculelor de acid deoxiribonucleic (ADN) care se organizează prin asociere cu anumite proteine, rezultând cromosomii. Omul, similar celorlalte organisme superioare, prezintă în nucleu un set diploid de cromosomi, notat 2n. Numărul normal de cromosomi la specia umană este de 46, aceştia fiind grupați în 23 de perechi. Din cele 23 de perechi, 22 sunt identice la cele două sexe, constituind autosomii, iar una este diferită, reprezentând gonosomii: XX la femeie şi XY la bărbat.

Fiecare individ moşteneşte de la părinți, prin intermediul spermatozoidului, respectiv al ovulului, câte un set de cromosomi, deoarece gameții au un număr de cromosomi redus la jumătate (set haploid, notat n). Astfel, în momentul fecundării se constituie perechile de cromosomi omologi (cromosomi identici ca formă, dimensiune şi conținut genic, dar diferiți prin origine, unul fiind matern, iar celălalt patern) dar şi sexul genetic al viitorului copil prin asocierea cromosomului X matern cu X-ul sau Y-ul patern.

Unitatea de structură, funcție şi mutație a materialului genetic o reprezintă gena. Aceasta conține informația genetică necesară formării unui anumit caracter fenotipic. Genele de pe cromosomii omologi care ocupă aceeaşi poziție, denumită locus, şi determină variante diferite ale aceluiaşi caracter fenotipic se numesc gene alele. Fiecare persoană moşteneşte o alelă de la mamă şi una de la tată.

În condițiile în care pe parcursul formării gameților şi a fecundării au loc procese de recombinare genetică, iar materialul genetic este supus permanent riscului de apariție a unor mutații, este evident faptul că fiecare

zigot este unic şi irepetabil, având un **genotip** particular.

În afara informaţiei genetice din nucleu, celula mai conţine material genetic la nivelul mitocondriilor, ce reprezintă plasmotipul. Acesta este moştenit uniparental, exclusiv de la mamă, deoarece pe parcursul fecundării în ovul pătrunde doar capul spermatozoidului, regiune celulară ce nu conţine citoplasmă şi, implicit nici mitocondrii.

II.1.2. INDIVIDUALITATEA BIOLOGICĂ

Studiile genetice au indicat că fiecare persoană este unică atât datorită particularităţilor genetice, cât şi datorită mediului în care a trăit.

Factorii de mediu reprezintă totalitatea elementelor naturale (ecologice) şi socio-economice care acţionează asupra omului pe parcursul vieţii. Factorii ambientali determină unele caractere ale organismului şi condiţionează formarea unor caractere, în al căror determinism intervin şi factorii genetici. Astfel, fiecare om are o individualitate bio-psiho-socială.

Ansamblul unic de caractere specifice (morfologice, fiziologice, biochimice) produse prin interacţiunea în proporţii diferite, dintre ereditate (genotip) şi mediu defineşte fenotipul.

II.1.3. IMPORTANŢA CONCEPTULUI DE INDIVIDUALITATE GENETICĂ ŞI BIOLOGICĂ.

Conceptul de individualitate genetică şi biologică permite explicarea coerentă a anumitor particularităţi observate în medicina clasică, precum:

- vulnerabilitatea diferită a oamenilor la îmbolnăvire este consecinţa diferenţelor de răspuns ale organismului la acţiunea nocivă a factorilor de mediu – un exemplu în acest sens îl constituie bolile multifactoriale, în care factorii genetici determină o predispoziţie la boală, dar apariţia stării de boală este generată de intervenţia factorilor de mediu;
- expresivitatea variabilă a unor afecţiuni la pacienţi diferiţi din familii diferite sau chiar din aceeaşi familie;
- răspunsul diferenţiat al unor bolnavi diferiţi la acţiunea aceluiaşi medicament aplicat în doze echivalente.

Astfel, devine evident că medicina viitorului va impune conceptul "nu există boli ci numai bolnavi", iar componenta genetică individuală va personaliza diagnosticul şi tratamentul tuturor maladiilor umane.

II.2. DETERMINISMUL CARACTERELOR FENOTIPICE.

Fenotipul este determinat de interacţiunea continuă şi în proporţii variabile dintre genotip şi factorilor de mediu. În raport cu ponderea celor

două elemente în determinismul fenotipului, pot fi identificate trei tipuri de caractere: caractere pur ereditare (genetice), caractere determinate de interacțiunea ereditate – mediu şi caractere pur ecologice (negenetice) (figura II.1).

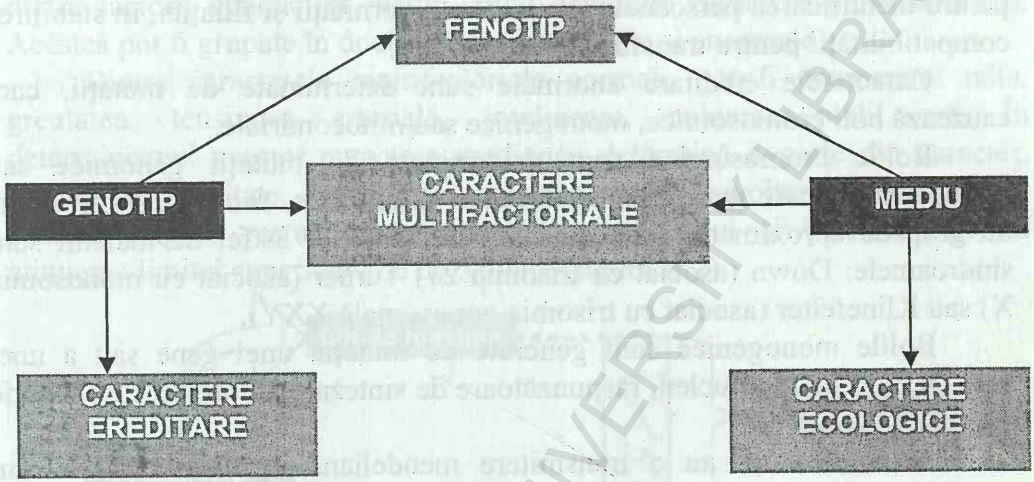


Figura II.1 Determinismul caracterelor fenotipice

II.2.1. CARACTERE FENOTIPICE PUR EREDITARE.

Caracterele pur ereditare sunt determinate exclusiv de genotip. Caracterele pur ereditare sunt de două tipuri: caractere normale (de specie şi monogenice) şi anormale (determină boli genetice).

Caracterele de specie sunt exclusiv genetice. Astfel, fiecare specie are un număr caracteristic, fix de cromosomi, precum şi o dispoziție precisă a genelor pe cromosom, reflectată printr-o configurație distinctă a benzilor cromosomice[1]. Aceste particularități explică imposibilitatea realizării pe cale naturală a unor hibrizi între om şi alte mamifere.

Caracterele ereditare monogenice sunt determinate de o singură pereche de gene şi transmise după un model ce respectă legile lui Mendel[2]. Ele sunt reprezentate de diferite sisteme de grup, precum grupele sanguine (ABO, Rh, MN, Xg, etc.), serice (haptoglobine, transferine, ş.a.), enzimatice (fosfatază acidă, etc.) şi tisulare (antigenele HLA).

Majoritatea acestor sisteme sunt polimorfe, adică în populație există mai multe variante ale aceluiaşi caracter (de exemplu pentru sistemul de grup sanguin AB0 există 6 variante fenotipice - grupele A_1, A_2, B, A_1B, A_2B şi 0) dar fiecare individ are numai una din aceste variante. Datorită

[1] Vezi capitolul **Stocarea informației genetice**
[2] Vezi capitolul **Transmiterea informației genetice**

numărului mare de sisteme polimorfe (>30) si de variante în cadrul fiecărui sistem, fiecare persoană constituie un unicat biologic[3].

Studiul caracterelor ereditare normale este folosit pentru cartografierea genelor pe cromosomi, dar are, în special, valoare practică fiind utilizat pentru identificarea persoanelor, expertiza paternității şi filiației, în stabilirea compatibilității pentru transfuzii şi transplante.

Caracterele ereditare anormale sunt determinate de mutații, care cauzează boli cromosomice, monogenice sau mitocondriale.

Bolile cromosomice sunt determinate de mutații genomice sau cromosomice, care generează anomalii cromosomice, fiind constituit dintr-un grup de aproximativ 600 maladii[4]. Exemple de astfel de maladii sunt sindroamele: Down (asociat cu trisomia 21) Turner (asociat cu monosomia X) sau Klinefelter (asociat cu trisomia gonosomală XXY).

Bolile monogenice sunt generate de mutația unei gene sau a unei perechi de gene din nucleu, răspunzătoare de sinteza unei proteine cu funcție anormală.

Aceste mutații au o transmitere mendeliană ce respectă unul din modelele: dominant autosomal (de exemplu, *osteogenesis imperfecta*), recesiv autosomal (de exemplu fenilcetonuria) dominant legat de cromosomul X (de exemplu rahitismul hipofosfatemic) sau recesiv legat de cromosomul X (de exemplu distrofia musculară Duchenne)[5].

Deşi aceste afecțiuni sunt 100% genetice, în unele cazuri manifestarea fenotipică poate fi influențată pozitiv (prin terapie) sau negativ (exacerbare) de factorii de mediu. De exemplu, deficitul de glucozo-6-fosfat-dehidrogenază, o boală cu transmitere recesivă legată de cromosomul X, devine manifest doar în condiții de hipoxie sau după consumul unor medicamente antioxidante[6].

Bolile mitocondriale sunt induse de mutații în la nivelul genelor din ADN-ul mitocondrial. În condițiile în care aceste gene intervin în producerea de energie, principalele organe afectate de mutațiile mitocondriale sunt cele care au un consum energetic important, precum creierul, nervii, muşchii şi analzatorii.

Bolile mitocondriale au o transmitere matriliniară, femeia afectată transmițând-o la toți descendenții, în timp ce bărbații bolnavi au toți copiii sănătoşi.

---

[3] Vezi capitolul **Variabilitatea genetică**
[4] Vezi capitolul **Bolile cromosomice**
[5] Vezi capitolul **Transmiterea şi bolile monogenice**
[6] Vezi capitolul **Variabilitatea genetică**

II.2.2. CARACTERE DETERMINATE DE INTERACȚIUNEA EREDITATE - MEDIU

În multe cazuri caracterele fenotipice sunt produse de interacțiunea dintre factorii genetici şi mediu, fiind denumite caractere multifactoriale. Acestea pot fi grupate în două categorii: normale şi anormale.

Dintre caracterele multifactoriale normale pot fi enumerate: talia, greutatea, tensiunea arterială, inteligența, culoarea pielii etc. În determinismul acestor caractere ereditatea determină o parte din caracter, numită heritabilitate, dar şi limita superioară de dezvoltare a caracterului. Mediul asigură restul determinismului caracterului şi permite sau nu atingerea limitei superioare de dezvoltare (figura II.2).

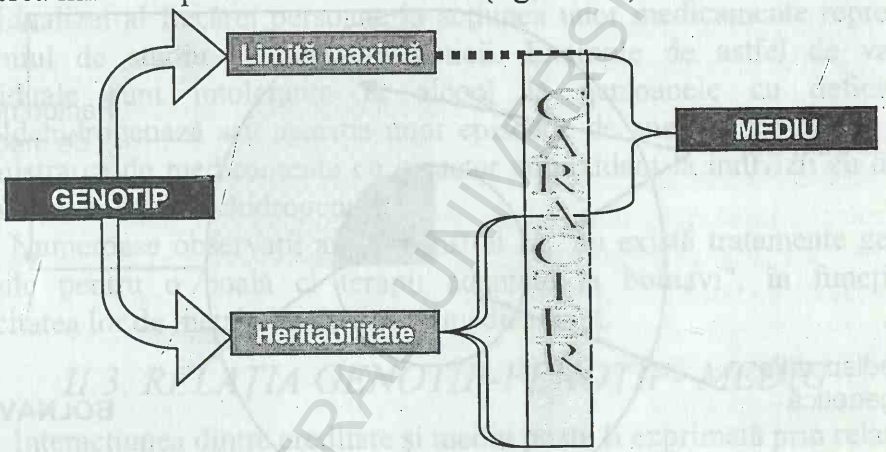


Figura II.2. Intervenția factorilor genetici şi a celor de mediu în determinismul caracterelor fenotipice multifactoriale

Un exemplu de caracter multifactorial normal este înălțimea, care este determinată genetic în proporție de 2/3. Factorii de mediu (alimentația, exercițiile fizice etc.) intervin în proporție de 1/3 în realizarea caracterului, asigurând totodată şi nivelul maxim de dezvoltare al taliei. În aceste condiții, estimarea taliei finale a unui copil se poate doar aproxima pe baza unor formule care iau în considerare talia maternă şi cea paternă[7]. Intervenția ambelor categorii de factori în determinismul înălțimii este justificată de următoarele aspecte: gemenii monozigoți (care au o ereditate identică), crescuți în medii diferite vor avea înălțimi diferite, iar populații genetic diferite ce trăiesc în acelaşi mediu vor avea talii diferite.

[7] Talia finală a unei copil se poate estima folosind formulele: TMP♂ = [(Tmamei+13 cm)+T tatalui]/2 ± 8 cm, respectiv TMP♀ = [Tmamei +(T tatalui – 13 cm]/2 ± 8 cm

În cazul caracterelor multifactoriale, ereditatea nu determină un singur fenotip, ci un *continuum* de fenotipuri ce variază între minimul şi maximul caracterului respectiv, denumit *normă de reactie la mediu.*

Caracterele multifactoriale anormale sunt reprezentate de o serie de boli multifactoriale[8] în care factorii ereditari (de obicei poligenici) şi factorii de mediu interacţionează complex.

Aceste afecţiuni au distribuţie familială, fără a exista însă o transmitere de tip mendelian. În aceste cazuri, genotipul determină o predispoziţie genetică la îmbolnăvire, adică o vulnerabilitatea particulară la acţiunea nocivă a factorilor de mediu. Astfel, apariţia bolii este condiţionată de cumularea efectelor factorilor genetici şi a celor de mediu (figura II.3.).

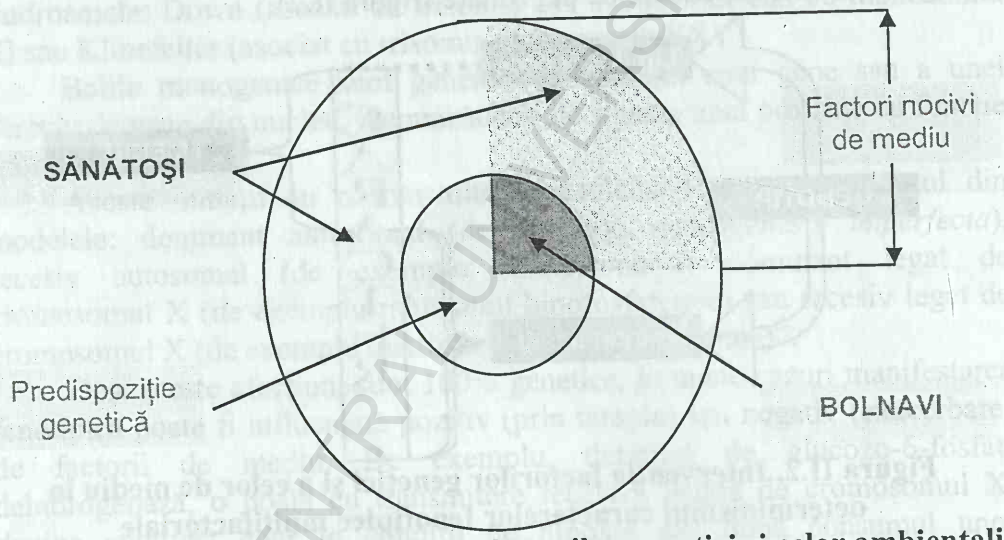


Figura II.3. Acţiunea combinată a factorilor genetici şi celor ambientali în determinisimul bolilor multifactoriale

Bolile multifactoriale pot fi grupate în anomalii congenitale izolate, de regulă diagnosticate la copil (de exemplu: luxaţia congenitală de şold, piciorul strâmb congenital, despicăturile labio-maxilo-palatine etc) şi bolile comune ale adultului (astmul bronşic, hipertensiunea arterială esenţială, boala coronariană, diabetul zaharat, schizofrenia etc.).

Un aspect deosebit de important în combaterea bolilor multifactoriale este reprezentat de cunoaşterea şi depistarea precoce a factorilor de risc din mediul ambiant. Astfel, prin evitarea acestora la indivizii cu predispoziţie genetică la boală se poate împiedica sau cel puţin întârzia apariţia bolii.

[8] Vezi capitolul **Ereditatea şi bolile multifactoriale**

II.2.3. CARACTERE DETERMINATE DE MEDIU

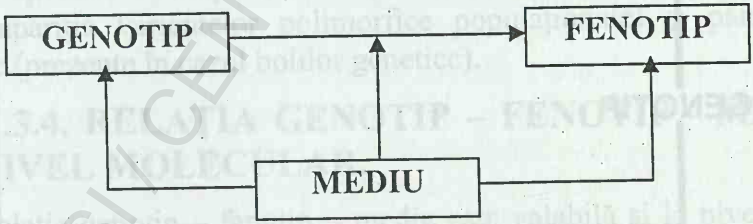
Agenții fizici, chimici sau biologici din mediul ambiant pot cauza leziuni asupra organismelor vii, generând îmbolnăviri, precum: arsurile, traumatismele, intoxicațiile sau infecțiile. Aceste afecțiuni constituie bolile negenetice. Deși aceste caractere, aparent nu sunt determinate decât de factorii ecologici, de fapt manifestările clinice ale acestor maladii sunt condiționate de structura genetică. Astfel, genotipul intervine major în determinismul mecanismelor de apărare, precum și în procesele de metabolizare, ceea ce influențează răspunsul specific la agresiuni.

Variațiile individuale, determinate genetic, la acțiunea factorilor ambientali constituie obiectul de studiu al ecogeneticii, în timp ce răspunsul individualizat al fiecărei persoane la acțiunea unor medicamente reprezintă domeniul de studiu al farmacogeneticii. Exemple de astfel de variații individuale sunt intoleranța la alcool la persoanele cu deficit de alcooldehidrogenază sau apariția unor episoade de anemie hemolitică după administrarea de medicamente cu caracter antioxidant la indivizii cu deficit de glucozo-6-fosfat dehidrogenază[9].

Numeroase observații au demonstrat că "nu există tratamente general valabile pentru o boală ci terapii adaptate la bolnavi", în funcție de capacitatea lor de metabolizare a unui medicament.

II.3. RELAȚIA GENOTIP-FENOTIP- MEDIU

Interacțiunea dintre ereditate și mediu poate fi exprimată prin relația:



II.3.1. RELAȚIA GENOTIP → FENOTIP

Relația genotip → fenotip este o relație cauzală, deoarece genotipul determină caractere fenotipice. Această relație este parțială, întrucât există gene care nu se manifestă fenotipic (gene recesive), iar unele caractere fenotipice sunt produse de mediu. Caracterele fenotipice determinate exclusiv de factorii genetici sunt caractere pur erditare.

---

[9] Vezi capitolul **Variabilitatea genetică**

Relaţia genotip → fenotip este o relaţie complexă, ea fiind modulată de intervenţia mai multor mecanisme sau fenomene. Exemple de astfel de fenomene sunt: eterogenitatea genetică şi norma de reacţie.

Eterogenitatea genetică apare în situaţiile când mutaţii în gene diferite determină fenotipuri identice (eterogenitate de locus), respectiv când mutaţii diferite ale aceleiaşi gene induc fenotipuri diferite (eterogenitate alelică)[10]. Un exemplu de eterogenitate de locus a fost identificată în cazul hemofiliilor A şi B. Cele două afecţiuni se manifestă clinic prin sângerări prelungite după traumatisme minore, secundare unor deficite ale unor factori de coagulare. Astfel, hemofilia A este cauzată de absenţa factorului de coagulare VIII, în timp ce hemofilia B este asociată cu un deficit al factorului de coagulare IX. Cunoaşterea fenomenului de eterogenitate genetică în hemofilie este importantă pentru stabilirea unui tratament substitutiv corect cu factor de coagulare VIII în hemofilia A şi factor de coagulare IX în hemofilia B. Un exemplu de eterogenitate alelică a fost depistat în hemoglobinopatii. Astfel, drepanocitoza[11] şi β-talasemia[12] sunt cauzate de mutaţii diferite ale genei β-globinei. În acest caz, cunoaşterea eterogenităţii genetice are importanţă pentru calcularea riscului de recurenţă şi profilaxia celor două boli.

Pe de altă parte acţiunea factorilor genetici asupra fenotipului este influenţată de intervenţia factorilor ambientali. Astfel, poate fi explicată norma de reacţie caracterizată prin faptul că acelaşi genotip determină fenotipuri diferite când există influenţe modualtoare a unor factori de mediu diferiţi (figura II.4.).

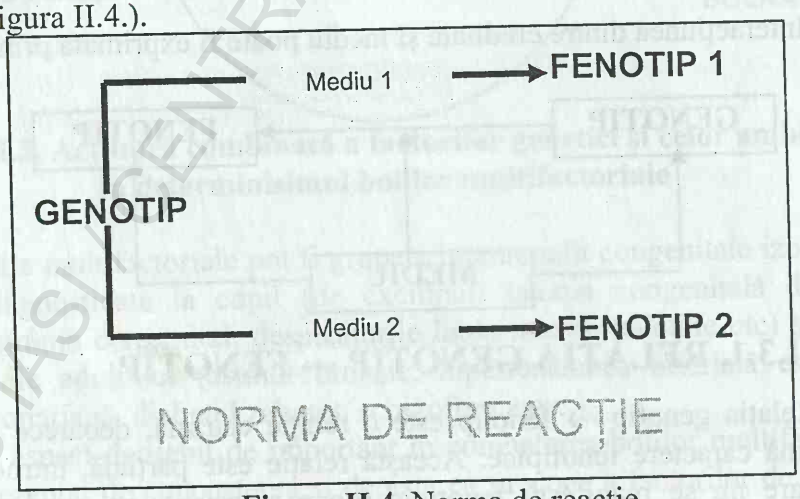


Figura II.4. Norma de reacţie

[10] Vezi capitolul **Gena – unitate de structură, funcţie şi mutaţie**
[11] Vezi capitolul **Gena – unitate de structură, funcţie şi mutaţie**
[12] Vezi capitolul **Transmiterea şi bolile monogenice**

II.3.2. RELAȚIA MEDIU → FENOTIP

Relația mediu → fenotip este o de asemenea o relație cauzală, în condițiile în care factorii ambientali determină anumite caractere fenotipice. Aceste caractere sunt numite modificații și, spre deosebire de caracterele fenotipice determinate de genotip, sunt neereditare. Intervenția factorilor ambientali asupra fenotipului determină caractere anormale, respectiv boli negenetice.

În anumite situații, caracterele fenotipice produse de mediu se manifestă asemănator cu caracterele fenotipice produse de genotip. Un astfel de caracter fenotipic este denumit fenocopie. Un exemplu de fenocopie a fost identificat în cazul microcefaliei, caracterizată prin reducerea perimetrului cranian cu mai mult de 2 DS[13]. Această anomalie congenitală izolată, deseori însoțită de retard mental, poate fi cauzată de diverse infecții fetale sau de diferite mutații genice. Stabilirea agentului cauzal în microcefalie are importanță deoarece riscul de recurență la viitoarele sarcini este cvasinul în cazul unui agent infecțios (bineînțeles dacă se elimină infecția), dar poate ajunge și la 50% în cazul anumitor mutații genice.

II.3.3. RELAȚIA MEDIU → GENOTIP

Factorii de mediu pot modifica direct genotipul, cauzând mutații[14]. Mutațiile pot avea efecte diferite asupra genotipului, interesând o singură genă, unul sau mai mulți cromosomi sau întregul genom. De asemenea, consecințele fenotipice ale mutațiilor variază de la efecte benefice (asigură evoluția speciilor sau apariția de specii noi) la efecte nule (răspunzătoare pentru apariția variantelor polimorfice populaționale) și până la efecte negative (prezente în cazul bolilor genetice).

II.3.4. RELAȚIA GENOTIP – FENOTIP - MEDIU LA NIVEL MOLECULAR.

Relația genotip – fenotip – mediu este valabilă și la nivel molecular. Astfel, genotipul este înlocuit de moleculele de ADN, iar fenotipul este concretizat prin diverse proteine. În aceste condiții, relația genotip → fenotip devine ADN → PROTEINE. Această relație este complexă, deoarece:

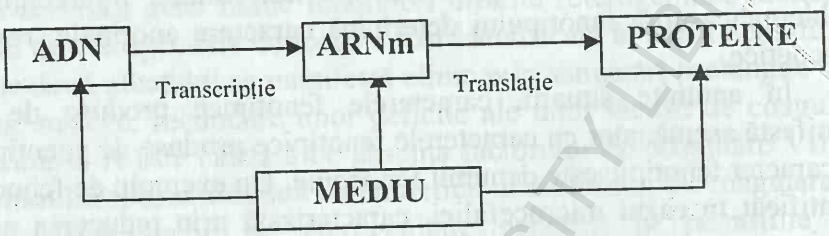
- expresia informației ereditare implică două procese *transcripția* (sinteza de ARNm) și *translația* (sinteza de proteine), care se desfășoară în compartimente celulare diferite și pot suferi diverse influențe din partea

[13] DS – deviații standard

[14] Vezi capitolul **Variabilitatea genetică**

unor factori celulari sau extracelulari;
- informaţia genetică se transmite în succesiunea generaţiilor celulare, prin *replicare semiconservativă* formîndu-se molecule de ADN identice;
- fiecare element şi etapă a relaţiei poate fi *influenţată de mediu*.

Astfel, relaţia genotip – fenotip – mediu poate fi reformulată:



BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

III. STOCAREA INFORMAȚIEI GENETICE

III.1. STRUCTURA ACIDULUI DEOXIRIBONUCLEIC

III.1.1. STRUCTURA PRIMARĂ A ADN-ului

Structura primară a ADN-ului este reprezentată de succesiunea nucleotidelor pe catena de ADN (informația genetică codificată). Fiecare nucleotid este constituit din trei elemente: ***o bază azotată (N), un rest de deoxiriboză (dR) şi un rest de acid ortofosforic (P)***. Structura fiecărei catene de ADN poate fi scrisă prescurtat în următoarea formă:

$$(P\text{-}dR\text{-}N)_n$$

Deoxiriboza este o pentoză, o glucidă cu cinci atomi de carbon. În molecula de ADN este prezentă forma furanozică a monozaharidei.

Bazele azotate sunt heterocicluri cu atomi de azot. În structura ADN-ului pot fi identificate două tipuri de baze azotate: ***purinice*** şi ***pirimidinice***. Bazele purinice conțin două heterocicluri cu azot, fiind reprezentate de adenină (**A**) şi guanină (**G**). Bazele pirimidinice conțin un singur heterociclu cu azot, fiind reprezentate de timină (**T**) şi citozină (**C**).

Prin formarea de puncți fosfodiesterice între nucleotidele învecinate, deoxiriboza şi acidul ortofosforic alcătuiesc axul longitudinal al moleculei de ADN. Între deoxiriboza şi acidul ortofosforic al aceluiaşi nucleotid se formează o legătură fosfoesterică la nivelul grupării hidroxil de la atomul C_5 al deoxiribozei. Fixarea nucleotidelor învecinate se realizează prin formarea unei legături fosfoesterice între acidul ortofosforic al unui nucleotid şi gruparea hidroxil de la nivelul atomului de carbon C_3 al deoxiribozei următorului nucleotid.

Bazele azotate se fixează lateral, perpendicular pe axul fosfo-glucidic, prin realizarea unei ***legături covalente*** (legătură chimică puternică) între atomul de carbon C_1 al deoxiribozei şi unul din atomii de azot ai bazei azotate. Bazele azotate ale aceleiaşi catene ***nu prezintă niciodată*** legături între ele.

O altă particularitate deosebit de importantă este că prezența unei baze azotate la nivelul unui nucleotid ***nu exclude*** prezența nici uneia din cele patru baze azotate la nivelul celor două nucleotide conexe. Astfel, bazele azotate ale unei catene au o ***libertate completă de asociere***, element esențial pentru funcția de stocare a informației genetice.

Fiecare catenă de ADN este ***polarizată electric***, deoarece la cele două capete ale catenei se găsesc grupe chimice încărcate electric diferit. Astfel,

la capătul 5' se găseşte un rest de acid ortofosforic, iar la capătul opus se găseşte o grupă hidroxil liberă. Astfel, polarizarea catenei de ADN este în sensul 5'→3'.

Astfel, fiecare catenă de ADN este: ***liniară, neramificată, polarizată electric şi constituită din succesiunea neîntreruptă a nucleotidelor*** (figura III.1.).

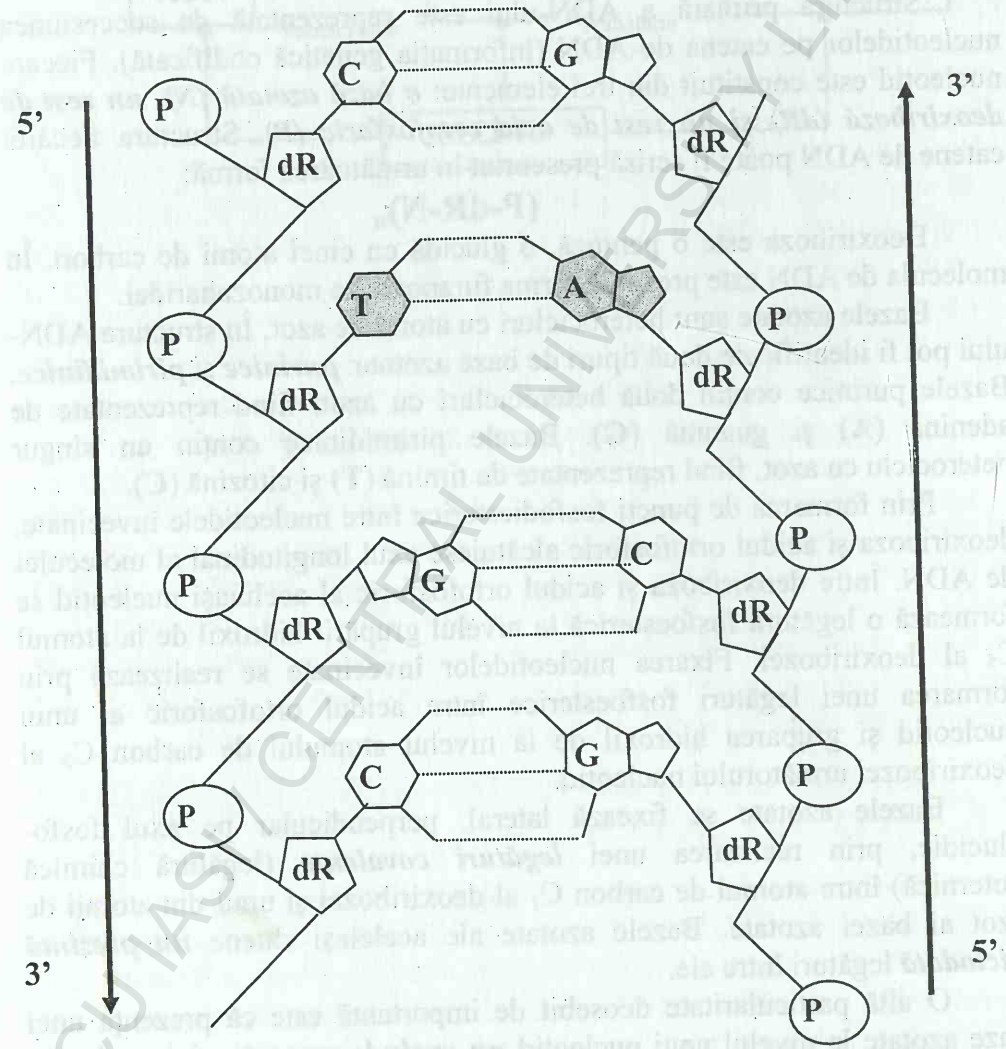


Figura III.1. Structura primară şi legăturile de hidrogen dintre catenele moleculei de ADN

A – Adenină; G – Guanină; C – Citozină; T – Timină; P – Acid ortofosforic; dR – Deoxiriboză; --- legături de hidrogen; —— legături covalente

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

III.1.2. STRUCTURA SECUNDARĂ A ADN-ULUI

Structura secundară a moleculei de ADN este reprezentată de modul de asociere al celor două catene.

Analizele chimice ale ADN-ului de la specii diferite au evidențiat că raportul A+T/G+C este diferit de la o specie la alta, dar caracteristic speciei respective. La om acest raport este de 1,7. În schimb, suma bazelor purinice (A+G) este întotdeauna egală cu suma bazelor pirimidinice (T+C) iar rapoartele A/T şi G/C sunt unitare, indiferent de specie.

Pe baza acestor date, Watson şi Crick au stabilit că cele două catene sunt atașate una la cealaltă prin ***punți de hidrogen*** (legături electrostatice slabe) formate între bazele azotate ale celor două catene. Întotdeauna, adenina se fixează la timină prin ***două legături de hidrogen***, iar citozina la guanină prin ***trei punți de hidrogen – legea complementarității bazelor.***

$$A = T$$

$$C \equiv G$$

Datorită acestor particularități de asociere, cele două catene sunt ***complementare*** şi ***codeterminate***, în sensul că prezența unei baze azotate pe una din catene impune prezența pe cealaltă catenă a bazei azotate complementare.

Deşi legăturile de hidrogen sunt legături slabe, numărul lor mare (aproximativ 3×10^9 legături per moleculă) asigură moleculei de ADN stabilitate în condiții fiziologice. Totuşi, legăturile de hidrogen pot fi desfăcute, atât în condiții fiziologice, cât şi sub acțiunea unor factori extracelulari. În condiții normale, desfacerea enzimatică a punților de hidrogen permite transcripția şi translația. Legăturile de hidrogen se pot rupe experimental prin încălzire sau sub acțiunea unor baze sau acizi, proces numit ***denaturare***. Prin refacerea lentă a condițiilor fiziologice, punțile de hidrogen se refac, proces numit ***renaturare***. Dacă nu se reconstituie condițiile fiziologice, atunci cele două catene rămân separate, particularitate utilizată în tehnologiile ADN-ului recombinant pentru realizarea unor molecule hibride de acizi nucleici (ADN-ADN sau ADN-ARN).

Din motive de ordin steric, cele două catene sunt ***antiparalele***. De aceea, ele vor avea o polarizare inversă, una fiind polarizată 5'→3', în timp ce cealaltă este polarizată 3'→5'.

Cele două catene sunt înfăşurate ***plectonemic***, formând o dublă spirală (*"elicea vieții"*). Înfăşurarea plectonemică se datoreşte, pe de o parte răsucirii celor două catene una în jurul celeilalte, iar pe de altă parte

spiralizării celor două catene în jurul unui ax central. În celulele umane, ADN-ul prezintă o spiralizare **dextrogiră** (de la dreapta la stânga).

Datele de microscopie electronică au arătat că spirala moleculei de ADN are un diametru de 20 Å (20 x 10^{-10} m) pasul spiralei fiind de 34 Å. Pe parcursul unui pas (distanța dintre două elemente identice alăturate, măsurată în direcția în care se repetă elementele) se găsesc înşiruite 10 nucleotide. Fiecare nucleotidă are circa 3,4 Å şi este rotită cu 36^0 în raport cu nucleotidele adiacente.

Organizarea moleculei de ADN este de aşa natură încât cele două axe fosfo-glucidice se găsesc la exterior, în timp ce la mijloc sunt localizate bazele azotate ataşate prin punți de hidrogen.

La nivelul dublei spirale a fost posibilă identificarea a două şanțuri sau incizuri, cu dimensiuni diferite. În şanțul mare (22 Å) se fixează factorii proteici ce reglează transcripția şi translația. În şanțul mic (12 Å) se fixează *histonele,* proteine bazice, implicate în stabilizarea moleculei de ADN, prin structurare supramoleculară.

III.1.3. PARTICULARITĂȚILE STRUCTURII ADN LA EUCARIOTE

Eucariotele sunt organisme superioare, cu o organizare celulară complexă, datorită prezenței ***nucleului*** şi ***organitelor citoplamsatice*** (mitocondrii, reticul endoplasmatic, aparat Golgi, centrioli) care lipsesc la procariote.

La eucariote structura ADN-ului prezintă următoarele *particularități*: cantitate mare, heterogenitatea secvențelor nucleotidice, asocierea obligatorie cu proteine şi organizarea supramoleculară în fibre de cromatină şi cromosomi.

III.1.3.1. Cantitatea de ADN

La eucariote cantitatea de ADN din celulă este foarte mare. De exemplu, genomul uman diploid conține aproximativ ***6 miliarde p.b.*** (p.b. - perechi de baze), de peste 10 ori mai mult decât ar fi necesar pentru codificarea tuturor proteinelor.

ADN-ul nuclear este *fragmentat în mai multe molecule,* care sunt asociate cu diferite tipuri de proteine şi, prin organizare supramoleculară, formează cromatidele cromosomilor. Aceştia pot conține o singură cromatidă (*cromosom monocromatidian)* sau două cromatide surori identice (*cromosom bicromatidian*). Numărul de cromosomi constituie o ***caracteristică de specie.*** La om celulele somatice conțin 46 de cromosomi, număr ce se menține ***constant*** indiferent de etapa cilcului celular.

III.1.3.2. Eterogenitatea secvențelor nucleotidice ale ADN-ului

Eterogenitatea secvențelor nucleotidice ale ADN-ului este reflectată de prezența în genomul uman a mai multor *"clase"* de ADN, diferite prin dimensiunea și numărul de repetiții ale secvențelor nucleotidice.

Studiile de cinetică a renaturării ADN-ului au evidențiat mai multe tipuri de ADN, diferite prin numărul de repetiții ale secvențelor de ADN: ADN nerepetitiv și secvențe de ADN repetitiv.

ADN-ul nerepetitiv reprezintă cea mai mare parte din genom (40%) și este alcătuit din secvențe unice per genom sau repetate în număr foarte mic de exemplare (familii multigenice). ADN-ul nerepetitv este localizat cel mai frecvent în regiunile cromosomice active transcripțional, mai puțin condensate, care formează ***eucromatina*** identificată prin studiile de microscopie optică. Totuși, doar o mică parte (5-10%) din ADN-ul nerepetitiv alcătuiește *regiunile codante ale genelor* (exonii). Aceste secvențe au dimensiuni mai mari de 25 kb și sunt transcrise de ARN polimeraza II. Restul ADN-ului nerepetitiv este *necodant* și are funcții încă necunoscute, fiind localizat în interiorul genelor (introni) sau în regiunile intergenice.

Secvențele repetitive formează aproximativ 50% din genom și sunt bogate în perechi de baze AT. Ele sunt împărțite în 5 clase:

- secvențe repetitive derivate din transposoni;
- pseudogene;
- secvențe repetitive simple;
- duplicații segmentare;
- blocuri de secvențe repetitive în tandem (centromerice sau telomerice).

Secvențele repetitive derivate din transposoni reprezintă circa 45 % din secvențele repetitive și este alcătuit din *secvențe scurte*, de 300-1000 pb (rar mai mari), *repetate* de zeci sau sute de mii de ori și *dispersate* în genom. Majoritatea acestor secvențe sunt transcrise în ARNm, dar nu sunt translate.

Acest tip de ADN formează frecvent *"familii"* de secvențe înrudite, unele cu funcție cunoscută (codante pentru ARNr și ARNt) altele cu funcție necunoscută - secvențele SINES, LINES, LTR și transposoni de tip ADN.

Secvențele SINES și LINES intervin, probabil, în *împerecherea corectă* a cromosomilor omologi în meioză, condiție esențială pentru *schimbul egal* de segmente cromosomice. Prin împerechere incorectă între secvențe identice, dar localizate diferit se pot produce *recombinări aberante,* care generează mutații și boli genetice.

Pseudogenele sunt copii nefuncționale ale unor gene, fragmente genice sau a unor gene trunchiate, care au potențial de reactivare. Un

exemplu îl constituie, pseudogenele din familia genelor α şi β globinelor, care uneori, în situaţii patologice (hemoglobinopatii) se reactivează[15].

Secvenţele repetitive simple reprezintă 3% din genom şi este alcătuit din secvenţe foarte scurte (2-500 pb) repetate în tandem, de milioane de ori. Ele *nu sunt transcrise* şi formează unele fracţii ale ADN-ului satelit (tabelul III.1.).

Tabelul III.1. Tipuri de secvenţe de ADN repetitive simple

Tip	Număr repetiţii	Localizare cromosomică
ADN satelit (blocuri de 100 kb - Mb)		Majoritatea, posibil, toţi cromosomii
• Sateliţi 2 şi 3	5	Heterocromatina centromerică a cromosomilor şi alte regiuni de heterocromatină
• Sateliţi 1 (bogaţi în pb A-T)		
• A (ADN alfa)	171	Heterocromatina centromerică a cromosomilor
• β (familia Sau3A)	68	Heterocromatina centromerică a cromosomilor 1, 9, 13, 14, 15, 21, 22, Y
ADN minisatelit (blocuri de 0,1-20 kb)		
Familia telomerică	6	Toate telomerele
Familia hipervariabilă	9-24	Toţi cromosomii, de regulă peritelomeric
ADN microsatelit (blocuri < 150 pb)	1-4	Toţi cromosomii

Unele secvenţe de acest tip ADN sunt *aglomerate* în regiunile cromosomice bogate în ***heterocromatină constitutivă*** (centromer, telomere, constricţii secundare) şi au un *rol structural*

Alte secvenţe, cu lungime de 14-500 pb, sunt *repetate în tandem,* fiind *dispersate* în toţi cromosomii la nivelul telomerelor şi peritelomeric, cu excepţia cromosomilor X şi Y. Aceste secvenţe constituie ***minisateliţii*** hipervariabili (VNTR - *variable number of tandem repeats*). Minisateliţii sunt alcătuiţi dintr-o regiune centrală, cu o secvenţă identică şi regiuni periferice variabile. Ei reprezintă *markeri genetici individuali*, deoarece numărul de repetiţii ale secvenţei unui minisatelit variază de la o persoană la alta. Numărul mare de minisateliţi şi de variante ale fiecăruia face improbabilă existenţa a doi indivizi identici, neînrudiţi (probabilitatea unui astfel de eveniment este mai mică de 10^{-20}).

[15] Vezi capitolul **Gena unitate de structură, funcţie şi mutaţie**

Minisateliții reprezintă ***amprenta genetică*** a fiecărui individ, particularitate folosită astăzi în: medicina legală, cartografierea genomului uman, diagnosticul molecular al bolilor genetice şi analiza cromosomică.

Cele mai scurte secvențe repetitive au 2-13 pb şi rezultă prin repetiția unui dinucleotid (CA sau GT). Ele au o structură polimorfă, dar prezintă o distribuție uniformă în genom. Aceste secvențe sunt numite ***microsateliți*** (VNDR - *variable number of dinucleotids repeats*).

Duplicațiile segmentare au rezultat prin duplicația unor secvențe genice şi transferul lor sub formă de blocuri de 1-200 kb în diferite zone din genom pe acelaşi cromosom sau pe un alt cromosom.

Secvențele repetitive în tandem sunt situate centromeric, paracentromeric, telomeric şi pe brațele scurte ale cromosomilor acrocentrici.

III.1.3.3. Asocierea ADN - proteine.

În nucleu, ADN-ul eucariotelor este *asociat cu proteine* histonice, proteine nehistonice şi mici cantități de ARN, constituind ***fibrele de cromatină***. Interacțiunile dintre ADN şi histone asigură organizarea supramoleculară a ADN-ului, iar cele dintre ADN şi proteinele nehistonice permit funcționarea mecanismelor complexe care reglează expresia şi replicarea genelor.

Histonele sunt proteine cu caracter bazic, prezente la toate organismele eucariote. Acestea au mare afinitate pentru ADN şi se fixează specific la nivelul micii incizuri a dublei spirale de ADN.

Caracterul bazic al histonelor contribuie la neutralizarea sarcinilor acide ale ADN-ului. Există cinci tipuri de histone prezente la toate eucariotele: ***H1, H2A, H2B, H3 şi H4***. Cu excepția histonei H1, celelalte tipuri au o structură stabilă, *bine conservată în evoluție*, ceea ce relevă rolul structural important.

Histonele participă la organizarea supramoleculară a ADN-ului, asigurând compactarea materialului genetic în nucleu. Ele sunt componente de bază ale ***nucleosomilor***, primul nivel de organizare supramoleculară a moleculei de ADN. Histonele intervin şi în *reglarea expresiei genelor*. Prin acetilarea histonelor sunt activate unele gene, în timp ce metilarea lor produce represie genică. Fosforilarea histonei H1 provoacă *condensarea fibrelor de cromatină* interfazică în cromosomi şi declanşează mitoza.

Proteinele nehistonice au caracter acid sau neutru. Ele sunt numeroase, heterogene, dar cantitatea prezentă în nucleu este mică. Unele proteine nehistonice au un *rol structural,* formând "matricea" cromosomilor, dar majoritatea au *roluri funcționale*, intervenind specific în reglarea sau modularea activității genelor. Ele se fixează la ADN în marea incizură laterală.

III.2. ORGANIZAREA SUPRAMOLECULARĂ A ADN-ului

Organizarea supramoleculară a ADN-ului este complexă, în nucleu existând un *sistem ierarhizat de fibre de cromatină*, rezultat prin spiralizări succesive ale moleculei de ADN. Aceste spiralizări permit *compactarea* moleculelor lungi de ADN în spaţiul nuclear, care nu depăşeşte câţiva microni în diametru. Această compactare este ordonată, menţinând accesibilitatea ADN-ului pentru proteinele implicate în controlul expresiei genice şi al replicării moleculei de ADN. La începutul profazei fibrele de cromatină se spiralizează şi formează cromosomii, modalitatea de organizare a materialului genetic în cursul diviziunii.

III.2.1. APARATUL GENETIC AL CELULEI

Aparatul genetic al celulei este constituit din structurile celulare care conţin ADN şi cele care intervin în realizarea funcţiilor sale. Organitele celulare care conţin ADN sunt: nucleul, mitocondriile şi centriolii (centrosomii) iar cele care participă la realizarea funcţiilor ADN-ului sunt: ribosomii şi centriolii.

III.2.1.1. Nucleul

Nucleul este elementul principal al aparatului genetic, fiind centrul de comandă şi control al activităţilor celulare. El conţine circa 99,5% din ADN-ul celulei. Morfologia nucleului diferă în raport cu cele două etape importante ale ciclului celular: interfaza şi diviziunea.

În interfază nucleul este delimitat la exterior de o membrană bilaminară poroasă. Porii membranari permit schimburile nucleo-citoplasmatice. Membrana nucleară reprezintă elementul spaţial de separare al transcripţiei (desfăşurată în nucleu) de translaţie (realizată în citoplasmă) oferind posibilităţi ample de utilizare a informaţiei genetice.

Nucleul conţine: un nucleoschelet, cromatină, nucleoplasmă şi nucleoli. Pe nucleoschelet în interfază se fixează moleculele de ADN. Interacţiunile dintre ADN şi nucleoschelet, respectiv membrană nucleară au roluri importante în reglarea expresiei genetice şi în mecanismele diviziunii celulei. Nucleolii au rol esenţial în producerea şi asamblarea ribosomilor.

În nucleu, fiecare moleculă de ADN se asociază cu proteine histonice şi mici cantităţi de ARN şi proteine nehistonice. Aceste complexe suferă spiralizări succesive şi alcătuiesc ***fibrele de cromatină***, evidente doar la microscopul electronic.

Examenul la microscopul optic relevă prezența în nucleul interfazic a unor granule de cromatină, ce reprezintă părțile mai condensate ale fibrelor.

La începutul diviziunii, membrana nucleară și nucleolii dispar, iar fibrele de cromatină prezintă o condensare marcată, transformându-se în cromosomi. La sfârșitul diviziunii, cromosomii se despiralizează și revin la forma de filamente de cromatină (figura III.2.). Între cromatină și cromosomi ***nu există diferențe de ordin structural***, ci doar ***configurationale***, cromatina și cromosomii reprezentând modalitățile de organizare a materialului genetic, în interfază, respectiv diviziune.

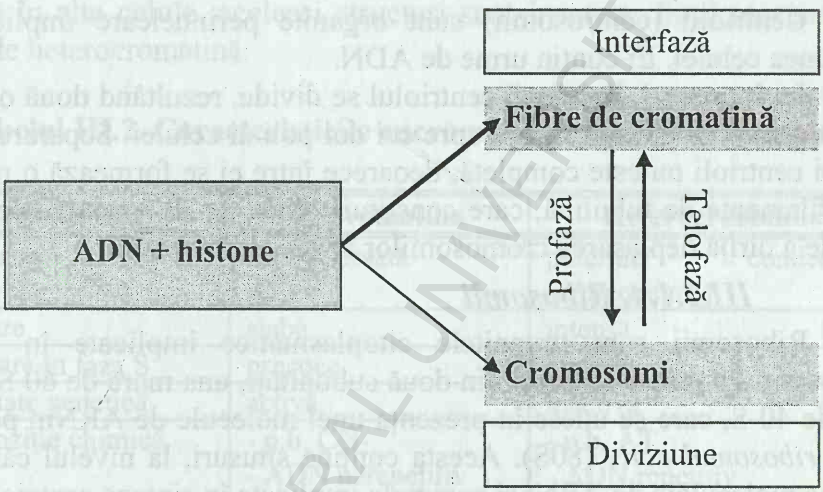


Figura III.2. Relația fibre de cromatină – cromosomi

Numărul de cromosomi (fibre de cromatină) din nucleu este ***identic*** în toate celulele organismului, constituind o ***caracteristică de specie***. Celulele ***somatice*** umane conțin ***46 cromosomi***, grupați în 23 perechi, care reprezintă un ***set diploid de cromosomi*** (2n). Informația genetică conținută de nucleul celulelor somatice reprezintă ***genotipul***.

Celulele ***sexuale mature, gameții*** (ovulul și spermatozoidul) prezintă în nucleu un număr de cromosomi redus la jumătate comparativ cu celulele somatice. Gameții au ***23 de cromosomi***, câte unul din fiecare pereche, care reprezintă un ***set haploid de cromosomi*** (n). Informația genetică din nucleul gameților reprezintă ***genomul***[16]

[16] Celule haploide – celule care au un singur cromosom din fiecare pereche (din gr. *haploos* – simplu); Celule diploide – celule care au câte doi cromosomi de același tip, celule care au un număr de cromosomi identic cu cel al ovulului fecundat

III.2.1.2. Mitocondriile

Mitocondriile sunt organitele citoplasmatice care asigură energia necesară funcționării celulei.

Fiecare mitocondrie conține 2 – 10 molecule mici, identice de ADN bicatenar, organizat sub forma unor cromosomi circulari. ADN-ul mitocondrial este parțial autonom. ADN-ul din cele circa 500 de mitocondrii ale unei celule constituie ***plasmotipul*** şi reprezintă aproximativ 0,5% din ADN-ul celular.

III.2.1.3. Centriolii

Centriolii (centrosomii) sunt organite perinucleare implicate în diviziunea celulei. Ei conțin urme de ADN.

La începutul diviziunii centriolul se divide, rezultând două organite care migrează în direcții opuse, spre cei doi poli ai celulei. Separarea celor doi noi centrioli nu este completă, deoarece între ei se formează o rețea de microfilamente de tubulină, care constituie ***fusul de diviziune***. Acesta are rolul de a dirija deplasarea cromosomilor în cursul diviziunii.

III.2.1.4. Ribosomii

Ribosomii sunt organitele citoplasmatice implicate în sinteza proteinelor. Ei sunt constituiți din două subunități, una mare de 60 S şi una mică de 40 S, care se unesc în prezența unei molecule de ARNm pentru a forma *ribosomul activ* (80S). Acesta conține situsuri, la nivelul cărora se vor fixa moleculele de ARNt şi enzimele implicate în sinteza proteică.

III.2.2. CROMATINA

Cromatina reprezintă modalitatea de organizare a materialului genetic în interfază. Ea este alcătuită dintr-un ansamblu ce conține o moleculă de ADN asociată cu histone, mici cantități de ARN şi proteine nehistonice. Aspectul cromatinei diferă în funcție de modalitatea de examinare: microscop optic sau microscop electronic.

III.2.2.1. Aspectul cromatinei la microscopul optic

Prin examinare la microscopul optic, în nucleu pot fi identificate două tipuri de granule de cromatină, care diferă prin gradul de condensare. Granulele mici, fine, care se colorează slab, reprezintă ***eucromatina***, în timp ce corpusculii mai condensați (cromocentri) care se colorează mai intens reprezintă ***heterocromatina***. Deosebirile dintre eucromatină şi heterocromatină nu sunt numai de ordin morfologic, ci şi de ordin biochimic şi funcțional.

Eucromatina este slab condensată, se colorează slab, se replică precoce la începutul fazei S a interfazei, este bogată în perechi de baze GC, conține o cantitate relativ mare de ADN nerepetitiv și proteine nehistonice și reprezintă partea activă genetic a cromatinei.

Heterocromatina este puternic condensată, se colorează intens, are replicare tardivă la sfârșitul fazei S, conține preponderent perechi de baze AT, conține mult ADN repetitiv și histone și reprezintă zonele inactive genetic ale fibrelor de cromatină (tabelul III.2.).

Corelația dintre structura și funcția cromatinei este complexă, deoarece: în unele celule anumite părți cromosomice (gene) pot fi active; în timp ce în alte celule, aceleași structuri sunt inactive, fiind prezente sub formă de heterocromatină.

Tabelul III.2. Caracteristicile eucromatinei și heterocromatinei

Caracteristici	Eucromatina	Heterocromatina
Condensare	fin dispersată	puternic condensată (cromocentri)
Colorare	slabă	intensă
Replicare în faza S	precoce	tardivă
Activitate genetică	activă	inactivă
Compoziție chimică	- p.b. CG - ADN nerepetitiv - proteine nehistonice	- p.b. AT - ADN repetitiv - proteine histonice

Heterocromatina poate fi diferențiată în două categorii:

- *heterocromatina constitutivă* – este prezentă la toți indivizii speciei și în toate celulele; ea constituie centromerul și telomerele tuturor cromosomilor, sateliții și constricțiile secundare ale unor cromosomi;
- *heterocromatina facultativă* – este prezentă la unele persoane, în unele celule și/sau în anumite perioade ale vieții; ea constituie ***cromatina sexuală***.

III.2.2.2. Cromatina sexuală

Cromatina sexuală este reprezentată de cromocentri, prezenți în nucleul celulelor interfazice, care au particularități morfologice distincte în celule feminine, respectiv masculine. Datorită acestor diferențe este posibilă identificarea numărului de cromosomi sexuali și determinarea ***sexului genetic***. Sexul genetic se formează în timpul fecundării prin

asocierea gonosomilor ovulului (X) şi spermatozoidului (X sau Y). În mod normal sexul genetic este **XX** la femeie şi **XY** la bărbat.

Cromatina sexuală diferă la femeie şi bărbat nu numai prin morfologie, ci şi prin mecanismele de apariţie. La femeie, cromatina X reflectă inactivarea unuia din cei doi cromosomi X, în timp ce la bărbat cromatina Y reprezintă un segment al braţului lung al cromosomului Y, care este prezentă permanent sub formă de heterocromatină.

CROMATINA X

În mod normal, cromatina X poate fi observată în nucleul tuturor celulelor unei persoane de sex feminin. Explicaţia originii cromatinei X a fost dată de Mary Lyon în 1961, care a formulat mai multe ipoteze:

- la organismele feminine, ***unul*** din cei doi cromosomi X se ***inactivează*** prin heterocromatinizare;
- inactivarea este ***precoce*** (începe în a 3-a zi şi se încheie în a 16-a zi de viaţă embrionară);
- inactivarea este ***definitivă*** şi ***se propagă clonal*** (dacă într-o celulă s-a inactivat unul din cei doi cromosomi X – matern sau patern – acesta va rămâne inactiv în toate celulele derivate din celula respectivă);
- inactivarea este ***întâmplătoare*** (în unele celule se inactivează cromosomul X de origine maternă, în timp ce în alte celule se inactivează cromosomul X de origine paternă) astfel încât se poate afirma că organismele feminine conţin un ***mozaic celular***, care diferă prin originea cromosomului X activ (figura III.3.)[17].

Aceste postulate nu sunt complet valabile deoarece:

- unele gene scapă inactivării;
- inactivarea nu este întâmplătoare, aspect dovedit în cazul prezenţei anomaliilor structurale ale cromosomului X; în prezenţa unor anomalii cromosomice structurale neechilibrate (deleţie, cromosom inelar, isocromosom) se inactivează preferenţial cromosomul anormal, în timp ce în cazul existenţei unor translocaţii reciproce echilibrate între cromosomul X şi un autosom se inactivează cromosomul X normal[18];
- inactivarea este definitivă doar în celulele somatice, în celulele liniei germinale cromosomul X inactiv se reactivează, ambii cromosomi X fiind activi.

---

[17] Mozaic celular – prezenţa în acelaşi organism a două sau mai multe populaţii celulare care diferă prin anumite caracteristici (de exemplu: număr de cromosomi)

[18] vezi capitolul **Variabilitatea genetică**

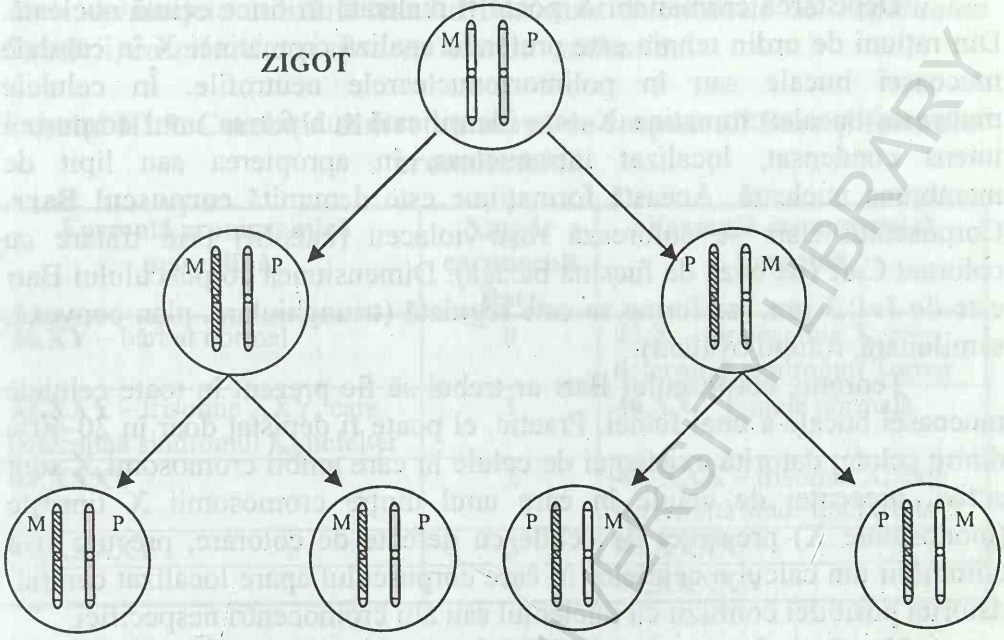


Figura III.3. Modelul inactivării întâmplătoare a cromosomului X
M – matern (cromosom alb); P – patern (cromosom cenuşiu);
cromosom haşurat – cromosom inactiv

Explicația apariției cromatinei X se bazează pe diferențele de conținut genic între cromosomii X şi Y. Cromosomul Y este un cromosom mic, sărac în eucromatină şi care conține puține gene implicate în special în sexualizarea masculină. În schimb, cromosomul X este un cromosom mijlociu, care conține numeroase gene implicate, atât în sexualizare (feminină şi masculină) cât şi în producerea unor caractere fenotipice somatice. Astfel, prin inactivarea unuia dintre cromosomii X se asigură un echilibru de dozaj genic între bărbați şi femei. Totuşi, organismele feminine au un mic avantaj determinat de faptul că o serie de gene (mai mult de 16 gene) scapă inactivării şi sunt prezente sub formă activă pe ambii cromosomi X.

Mecanismul inactivării nu este complet elucidat, dar se cunoaşte că el este controlat de un centru de inactivare (*XIC – X inactivation center)* localizat Xq13.2, care este funcțional doar pe cromosomul X inactiv. În regiunea centrului de inactivare a fost identificată gena *Xist* (*X Inactive Specific Transcript*) care asigură sinteza unor molecule de ARNm. Aceste molecule nu sunt translate în proteine, dar au rol funcțional, fixându-se în jurul porțiunilor de cromosom X ce conțin gene care trebuie inactivate, blocând astfel accesul proteinelor implicate în realizarea funcțiilor ADN-ului.

Depistarea cromatinei X poate fi realizată în orice celulă nucleată. Din rațiuni de ordin tehnic este preferată analiza cromatinei X în celulele mucoasei bucale sau în polimorfonuclearele neutrofile. În celulele mucoasei bucale cromatina X este identificată sub forma unui corpuscul intens condensat, localizat intranuclear, în apropierea sau lipit de membrana nucleară. Această formațiune este denumită **corpuscul Barr.** Corpusculul Barr se colorează roşu-violaceu (bazofil) prin tratare cu colorant Carr (pe bază de fucsină bazică). Dimensiunea corpusculului Barr este de 1±0,3 μm, iar forma sa este regulată (triunghiulară, plan convexă, semilunară, rotund ovalară).

Teoretic, corpusculul Barr ar trebui să fie prezent în toate celulele mucoasei bucale a unei femei. Practic, el poate fi depistat doar în 20-40% dintre celule, datorită existenței de celule în care ambii cromosomi X sunt activi, prezenței de celule în care unul dintre cromosomii X lipseşte (monosomie X) prezenței de celule cu defecte de colorare, precum şi a eliminării din calcul a celulelor în care corpusculul apare localizat central, datorită posibilei confuzii cu nucleolul sau alți cromocentri nespecifici.

Numărul de corpusculi Barr prezenți într-o celulă depinde de numărul de cromosomi X ai organismului respectiv. În condiții normale, femeile au un singur corpuscul Barr, în timp ce bărbații nu au niciunul. Formula de calcul folosită pentru stabilirea numărului de corpusculi Barr este următoarea:

Numărul de corpusculi Barr = numărul de cromosomi X - 1

În condiții patologice, corpusculul Barr poate lipsi la femeie sau este prezent la bărbat. Corelația dintre numărul de corpusculi Barr şi formula cromosomică este prezentată în tabelul III.3.

În prezența unor anomalii cromosomice de structură ale cromosomului X, dimensiunea corpusculului Barr poate fi modificată.

Astfel în cazul unor deleții, cromosomi inelari sau isocromosomi X de braț scurt, corpusculul Barr are o dimensiune de circa 0,7-0,8 μm.

În schimb, în prezența unui isocromosom X de braț lung, dimensiunea corpusculului Barr este de aproximativ 1,2-1,3 μm[19].

Testul cromatinei X este folosit în practica medicală pentru depistarea sexului genetic sau pentru diagnosticul unor aneuploidii ale cromosomului X.

[19] vezi capitolul **Variabilitatea genetică**

Avantajele utilizării testului Barr sunt determinate de: *rapiditatea* efectuării, *costul redus* şi *dotarea tehnică minimală.*

Tabelul III.3. Corelația dintre numărul de corpusculi Barr şi formula cromosomică

Formulă cromosomică masculină	Număr corpusculi Barr	Formulă cromosomică feminină
46,XY – bărbat normal	0	45,X – monosomie X, care determină sindromul Turner
47,XXY – trisomie XXY, care determină sindromul Klinefelter	1	46,XX – femeie normală
48,XXXY	2	47, XXX – trisomie X, care determină sindromul triplo X
49,XXXXY	3	48,XXXX
-	4	49,XXXXX

Indicațiile practice ale testului Barr sunt inserate în continuare.

Depistarea prenatală a sexului genetic al embrionului se face prin analiza cromatinei X în amniocite.

În cazul unui cuplu în care tatăl este sănătos, iar mama este heterozigotă, purtătoare a unei mutații recesive a unei gene localizate pe cromosomul X, stabilirea prenatală a sexului genetic al copilului este importantă deoarece permite estimarea riscului embrionului de a prezenta afecțiunea respectivă.

În cazul în care testul cromatinei X este ***pozitiv***, embrionul este de sex ***feminin***, iar ***riscul*** acestuia de a fi afectat este **0**, deoarece toate fetele moştenesc cromosomul X normal al tatălui. În schimb, dacă testul cromatinei X este ***negativ***, embrionul este de sex ***masculin***, iar ***riscul*** de a fi afectat este de **50%**, deoarece jumătate dintre băieți moştenesc cromosomul X matern anormal.

Stabilirea sexului genetic la nou-născuții cu ambivalența organelor genitale externe. Într-o serie de afecțiuni, denumite ***stări intersexuale***, bolnavii prezintă caractere sexuale atât feminine, cât şi masculine. În acest caz, aspectul organelor genitale este ambiguu, fiind prezente un *penoclitoris* şi un *labioscrot.* În aceste condiții devine imposibilă stabilirea sexului civil pe baza analizei organelor genitale externe.

Prin efectuarea testului Barr la nou-născuții cu stări intersexuale se stabileşte concordanța între sexul genetic şi sexul civil, ceea ce va asigura

copilului o dezvoltare psihocomportamentală corespunzătoare sexului din care face parte.

Identificarea anomaliilor cromosomului X. Efectuarea testului Barr este necesară la persoanele ce prezintă semne de disgenezie gonadică[20], indusă de aneuploidii ale cromosomului X.

- la o *femeie* cu talie mică, amenoree primară (absența ciclurilor menstruale) şi caractere sexuale secundare feminine slab dezvoltate (pilozitate sexuală redusă, dezvoltare anormală a glandelor mamare, organe genitale externe de aspect infantil) testul cromatinei X poate fi ***negativ***, aspect concordant cu prezența unei ***monosomii X*** (prezența unui singur gonosom); astfel testul cromatinei X este util în stabilirea diagnosticului de ***sindrom Turner***;
- la un *bărbat* cu talie înaltă, testiculi mici, caractere sexuale secundare masculine slab dezvoltate (pilozitate sexuală redusă, musculatură slab dezvoltată, voce înaltă) şi ginecomastie (prezența de glande mamare dezvoltate la un bărbat) testul Barr poate fi ***pozitiv***, aspect concordant cu prezența unei ***trisomii XXY*** (prezența a trei gonosomi) astfel testul cromatinei X este util în stabilirea diagnosticului de ***sindrom Klinefelter***[21]

În medicina legală testul Barr ***este aplicat*** pentru depistarea sexului genetic al unor fragmente de țesuturi (fire de păr, celule descuamate, pete de sânge etc.).

CROMATINA Y

Cromatina Y reprezintă aspectul interfazic al celor 2/3 distale ale brațului lung al cromosomului Y. La acest nivel este prezent un segment de heterocromatină intens fluorescentă.

Cromatina Y poate fi evidențiată în celule prelevate de la o persoană de sex masculin, prin colorație cu diferiți fluorocromi şi examinare microscopică în lumină ultravioletă. Deoarece segmentul distal al brațului lung al cromosomului Y se colorează intens fluorescent, cromatina Y este numită şi corpuscul F. Corpusculul F este situat intranuclear, iar mărimea medie este 0.25 μm.

Numărul de corpusculi F este egal cu numărul cromosomilor Y. La femei, indiferent de numărul de cromosomi X nu există nici un corpuscul F. La bărbații normali (46,XY) există un singur corpuscul F, situație ce

[20] Disgenezie gonadică – dezvoltare anormală a gonadelor

[21] În cazul stărilor intersexuale şi a disgeneziilor gonadice aplicarea testului Barr trebuie urmată **obligatoriu** de efectuarea analizei cromosomice

este prezentă şi la indivizii cu formule cromosomice anormale de tipul: 47,XXY. 48,XXXY sau 49,XXXXY. La persoanele cu doi cromosomi Y, formulă cromosomică 47,XYY sau 48,XXYY, există doi corpusculi de cromatină Y.

III.2.2.3. Structura supramoleculară a cromatinei

Analiza cromatinei la microscopul electronic a relevat că aceasta este organizată într-un sistem complex ierarhizat de fibre. Astfel, se realizează "compactarea" moleculelor lungi de ADN în spațiul nuclear, care are un diametru de 10 μm. Această compactare este astfel realizată încât molecula de ADN rămâne accesibilă proteinelor implicate în transcripție şi replicare. Organizarea cromatinei este similară la toate eucariotele, aspect care este susținut şi de faptul că structura genelor histonelor constituie una din caracteristicile cele mai bine conservate pe parcursul evoluției speciilor.

Unitatea structurală de bază a cromatinei este ***nucleosomul***. Nucleosomul este un complex de ADN şi histone (figura III.4.). Fiecare nucleosom conține un miez proteic, alcătuit din 8 molecule de histone, câte două molecule din clasele H2A, H2B, H3 şi H4. În jurul acestui miez, o secvență de ADN, alcătuită din 146 pb se spiralizează, realizând o tură şi trei sferturi. Doi nucleosomi învecinați sunt conectați printr-un segment de ADN liber, de circa 50-60 pb. Fibra cu nucleosomi are un diametru de 11 nm. Această spiralizare asigură o împachetare a ADN-ului de circa 10 ori.

Mecanismul de formare a nucleosomilor nu este complet cunoscut. Un aspect sigur este acela că nucleosomii nu sunt structuri rigide, deoarece funcțiile ADN-ului necesită accesul unor proteine reglatoare la nivelul secvențelor de ADN din structura nucleosomului.

Următorul nivel de organizare a materialului genetic apare prin spiralizarea filamentului cu nucleosomi, rezultând ***solenoidul***. Fiecare pas al spiralei solenoidului conține 6 nucleosomi. Menținerea asamblării nucleosomilor în solenoid este asigurată de histone din clasa H_1. Diametrul solenoidului este de circa de 30 nm. Prin această nouă spiralizare se asigură o compactare de 5 ori a fibrei cu nucleosomi.

Solenoidul nu are o structură omogenă, deoarece zonele spiralate alternează aparent neregulat cu zone nespiralate, unde se pot fixa proteinele reglatoare.

Al treilea nivel de organizare rezultă prin ***plierea fibrei de cromatină în bucle laterale***, care constituie domenii cromosomice cu autonomie funcțională (de replicare şi transcripție). Buclele au lungime care variază în domeniul 10-90 kb.

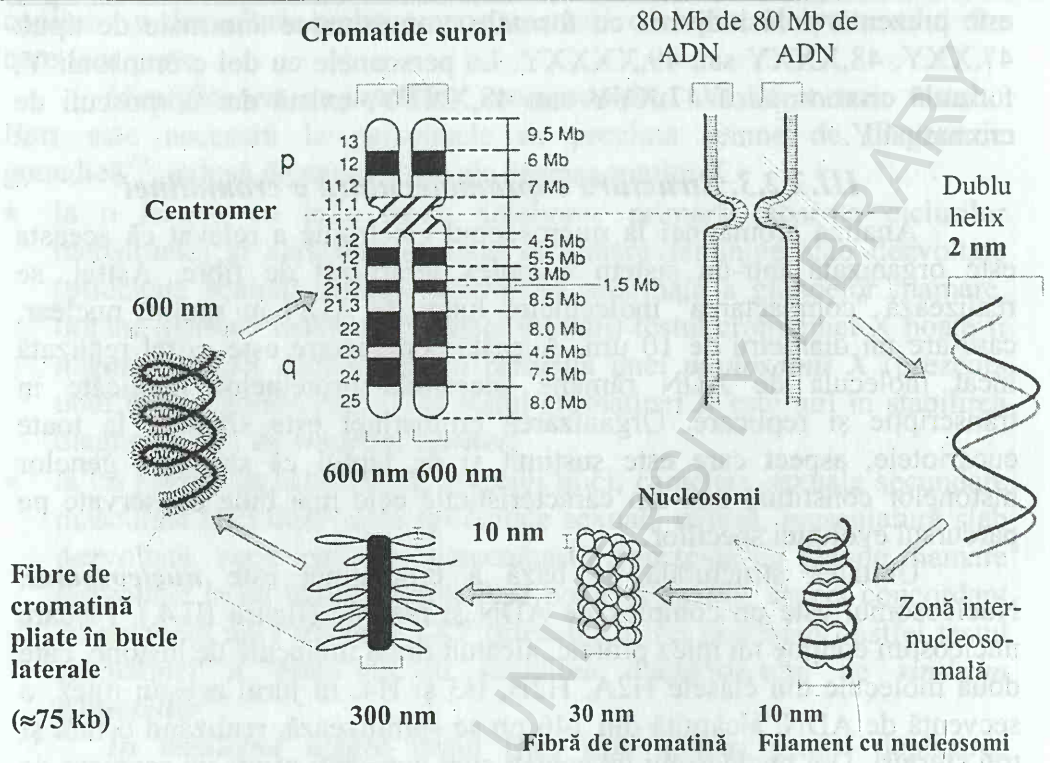


Figura III.4. Modalitatea de organizare supramoleculară a ADN-ului

Stabilizarea structurii este asigurată de un "schelet", format din proteine acide (nehistonice) pe care se fixează bazele buclelor laterale de cromatină. Aceste puncte de fixare sunt specifice, constituind baza dispoziției eucromatinei şi heterocromatinei. Morfologia acestui schelet proteic este identică cu cea a cromosomului metafazic.

Numărul de puncte de fixare al buclelor diferă de la o regiune cromosomică la alta. Astfel, în regiunile bogate în pb AT (regiuni de heterocromatină, inactivă genetic) numărul de puncte de fixare este mare, în timp ce în regiunile bogate în pb CG (regiuni de eucromatină, activă genetic) fixarea este mult mai laxă, aspect care este probabil corelat cu facilitatea de acțiune a factorilor proteici reglatori ce intervin în replicare şi transcripție.

Diametrul fibrei de cromatină pliată în bucle laterale este de aproximativ 300 nm, iar gradul de compactare este de 10 ori.

La începutul profazei, prin spiralizarea şi condensarea fibrelor de cromatină pliată în bucle laterale rezultă cromatidele cromosomilor. Condensarea acesteia continuă pe parcursul primelor etape de diviziune,

BCU "VASILE PÂRVAN" UNIVERSITY LIBRARY

atingând în metafază o grosime de 700 nm, concordantă cu gradul maxim de compactare a fibrei de cromatină.

Prin aceste spiralizări şi condensări succesive, molecula de ADN este compactată de circa 10000 de ori, ceea ce permite un control optim al expresiei genelor şi favorizează distribuția corectă a materialului genetic în diviziune.

III.2.3. CROMOSOMII UMANI

Cromosomii asigură transmiterea informației ereditare în succesiunea generațiilor de celule şi organisme. Comportamentul lor în timpul meiozei stă la baza legilor lui Mendel, iar organizarea lor permite realizarea funcțiilor ADN-ului, precum transcripția şi replicarea.

Identificarea numărului de cromosomi, caracteristic speciei umane, a fost făcută de Tjio şi Levan (1956) care au stabilit că celulele somatice au 46 de cromosomi.

Explorările citogenetice reprezintă o metodă importantă de diagnostic în medicina clinică, pentru evaluarea etiologiei unor sindroame plurimalformative, debilități mintale, tuburări de sexualizare şi reproducere, cancer, generate de prezența unor anomalii cromosomice.

Celulele somatice umane conțin 46 de cromosomi, grupați în 23 de perechi. Aceşti cromosomi constituie un set diploid (2n) de cromosomi. Din cele 23 de perechi 22 sunt identice la cele două sexe, reprezentând ***autosomii***, în timp ce o pereche este diferită, reprezentând ***gonosomii*** sau cromosomii sexuali, care asigură determinismul sexual. La femeie perechea de gonosomi este XX, în timp ce la bărbat aceasta este XY.

Fiecare gamet (ovulul şi spermatozoidul) conține doar jumătate din cromosomii unei celule somatice, respectiv un set complet haploid de 23 cromosomi diferiți. Ovulul are 22 de autosomi şi un cromosom X, în timp ce spermatozoidul conține 22 de autosomi, gonosomul fiind X sau Y. Prin fecundarea ovulului de către spermatozoid, rezultă zigotul, prima celulă a unui nou organism, totodată refăcându-se setul diploid de cromosomi.

Cromosomii reprezintă modalitatea de organizare a materialului genetic în cursul diviziunii. Ei se formează la începutul profazei, prin spiralizarea şi condensarea fibrei de cromatină. Prin această condensare se realizează o compactare de 20 de ori a materialului genetic.

III.2.3.1. Morfologia cromosomilor umani.

Morfologia cromosomilor este cel mai uşor de analizat în *metafază*[22]. În această fază cromosomii ajung la condensarea maximă, sunt

[22] Metafaza – a doua etapă a diviziunii celulare

bine individualizaţi şi se găsesc în acelaşi plan, la nivelul plăcii ecuatoriale. *Cromosomul metafazic* (figura III.5.) este alcătuit din două elemente longitudinale, numite *cromatide*, identice ca mărime şi formă ("*cromatide surori*") unite într-o regiune mai slab colorată numită ***centromer***.

Orice cromosom are trei elemente caracteristice: ***centromerul***, ***telomerele*** şi ***secvenţele cu replicare autonomă***, fără de care cromosomul respectiv nu poate funcţiona normal.

În zona centromerului poate fi evidenţiată o îngustare cromosomică numită ***constricţie primară***.

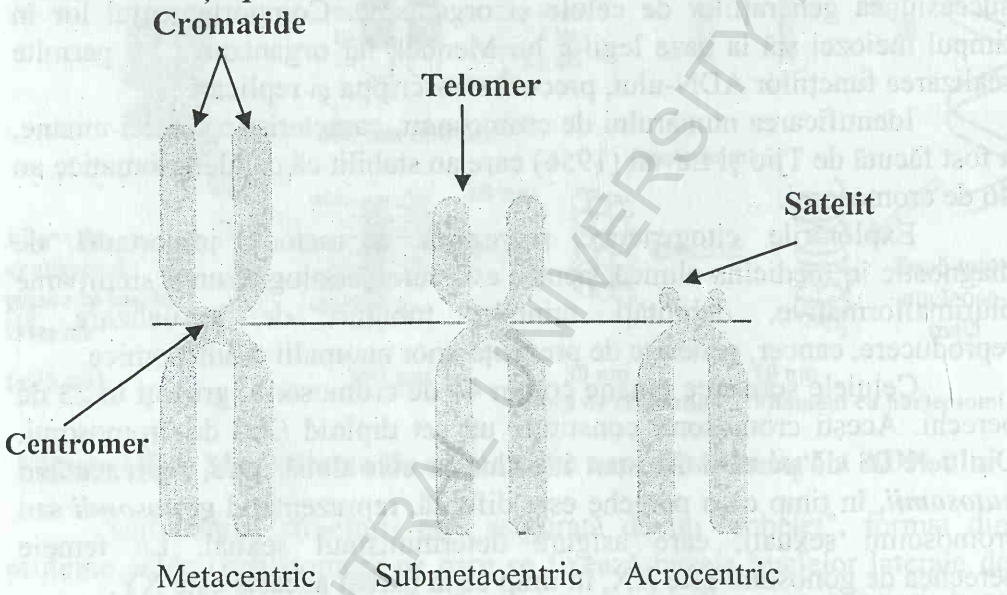


Figura III.5. Morfologia diferitelor tipuri de cromosomi

Centromerul împarte cromatidele în două braţe, egale sau inegale, notate convenţional cu *"p"* - braţul scurt şi *"q"* - braţul lung[23].

Poziţia centromerului poate fi:

- mediană, la cromosomii ***metacentrici*** (M);
- submediană, la cromosomii ***submetacentrici*** (SM);
- excentrică, la cromosomii ***acrocentrici*** (A).

Prezenţa centromerului este esenţială pentru deplasarea cromosomilor în cursul diviziunii celulei. Cromosomii lipsiţi de centromer – *cromosomi acentrici* – nu se pot ataşa la fibrele fusului de diviziune şi nu ajung în nucleul celulelor fiice.[24]

[23] p – abreviere de la "*petit*" (fr. mic); q abreviere de la "*queue*" (fr. coadă)

[24] cromosomii acentrici rezultă prin crossing-over inegal în cazul inversiilor (vezi capitolul **Variabilitatea genetică**)

BUCHAREST CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

La sfârşitul profazei, în regiunea centromerică a fiecărei cromatide este sintetizată o structură proteică specializată numită *kinetocor*. De la nivelul fiecărui kinetocor emerg o serie de microtubuli kinetocorici – proteine contractile - prin intermediul cărora cromosomul se fixează pe microtubulii polari ce fac parte din fusul de diviziune. În cursul anafazei, contracția microtubulilor kinetocorici asigură tracțiunea cromosomilor monocromatidieni spre polii fusului de diviziune.[25]

Complexul ADN centromeric-kinetocor, constituit din heterocromatina centromeric (ADN α-satelit) kinetocor şi proteinele asociate reprezintă *motorul mecano-chimic* al deplasării cromosomilor în cursul diviziunii. Mutațiile în genele răspunzătoare de formarea centromerului şi a proteinelor kinetocorilor duc la erori de diviziune (nedisjuncții sau întârzieri anafazice).

Părțile terminale ale cromatidelor sunt denumite ***telomere***. Telomerele conțin ADN şi proteine şi au trei funții esențiale:

- *mențin integritatea cromosomilor* – în absența proteinelor ce înconjură secvențele telomerice, capetele cromosomice sunt foarte "lipicioase" şi au tendința de a se ataşa la alte secvențe cromosomice, determinând rearanjamente cromosomice (translocații complexe);
- *intervin în replicarea secvențelor de ADN terminal* – în absența telomerelor ADN-ul nu se replică, fiind blocat ciclul celular[26];
- *contribuie la ataşarea cromosomilor* la membrana nucleară în cursul interfazei.

ADN-ul din zonele telomerice ale fiecărui cromosom conține 10.000-20.000 de repetiții în tandem ale unei secvențe hexanucleotidice, 5'-TTAGGG-3'. Replicarea telomerelor este diferită de replicarea celorlalte regiuni cromosomice, fiind asigurată de o ribonucleoprotează, numită ***telomerază***. Enzima este activă în celulele embrionare, în celulele compartimentului proliferativ al organismului (măduva osoasă hematogenă, stratul bazal al epiteliilor) şi în celulele canceroase[27] dar nu şi în majoritatea celulelor somatice. În absența sa, procesul de replicare al ADN-ului telomeric este complet doar pe una din catene, în timp ce cealaltă catenă se scurtează cu câteva repetiții hexanucleotidice la fiecare diviziune. Existența acestui mecanism de replicare poate explica parțial durata limitată a vieții majorității celulelor somatice.

---

[25] anafaza – a treia etapă a diviziunii

[26] vezi capitolul **Transmiterea informației genetice**

[27] în celulele canceroase activitatea telomerazică constituie un marker de prognostic, o activitate crescută fiind asociată cu o agresivitate crescută a neoplaziei

Identificarea genei telomerazei deschide perspective terapiei genetice, prin producerea de medicamente anticanceroase cu rol de inhibitor al telomerazei, combaterea bolilor degenerative asociate cu senescența sau prin folosirea enzimei în transplanturile de organe pentru a stimula creşterea celulară.

La eucariote, replicarea ADN-ului unui cromosom începe din mai multe puncte concomitent. Replicarea debutează din anumite regiuni cromosomice, care au o secvență de ADN identică, numite ***secvențe de replicare autonomă*** (ARS *autonomously replicating sequence*). Aceste secvențe sunt bogate în perechi de baze AT şi au o lungime mică, de circa 50 pb. Toate aceste secvențe au un miez activ, conservat în cursul evoluției, înconjurat de câteva copii imperfecte ale acestuia, care sunt inactive.

Unii cromosomi au elemente morfologice particulare, cum sunt constricțiile secundare, sateliții sau situsurile fragile.

Constricțiile secundare sunt regiuni cromosomice relativ slab condensate şi care, implicit, se colorează mai slab. Aceste tip de constricții secundare sunt localizate pericentromeric, pe brațul lung al unor cromosomi, precum cromosomii 1, 9 şi 16. Un alt tip de constricție secundară poate fi identificată pe cromosomii acrocentrici, când aceştia prezintă sateliți. În acest caz, constricția secundară separă sateliții de extremitatea brațelor scurte ale cromosomului

Sateliții sunt mici mase de heterocromatină localizate în continuarea brațelor scurte ale cromosomilor acrocentrici, cu excepția cromosomului Y. La nivelul sateliților sunt localizate copii multiple ale unor gene ce codifică ARN ribosomal, fiind numite şi *regiuni organizatoare ale nucleolilor* (NOR).

Situsurile fragile reprezintă regiuni cromosomice la nivelul cărora au fost identificate cu o frecvență crescută rupturi cromosomice. Aceste situsuri pot fi evidențiate prin tratamente speciale (folosirea unui mediu de cultură sărac în elemente esențiale sau a unor substanțe care modifică replicarea ADN-ului etc.) şi uneori pot fi asociate cu boli specifice (de exemplu situsul FRAXA de pe cromosomul X este asociat cu o formă de retard mental, caracteristică sindromului X fragil).

III.2.3.2. Metode de studiu al cromosomilor umani

Studiul cromosomilor umani se bazează pe trei ***principii fundamentale***:

- *obținerea de celule în diviziune;*
- *blocarea mitozei în metafază sau prometafază;*

- *obținerea preparatelor cromosomice și analiza lor la microscop.*

Celule în diviziune pot fi obținute prin: *biopsia* țesuturilor care se divid activ (măduvă osoasă hematogenă, gonade, tumori) sau prin *culturi de țesuturi de scurtă durată (*limfocite T din sângele periferic, măduvă osoasă hematogenă) sau *de lungă durată* (fibroblaști din țesut conjunctiv, celule din lichidul amniotic, din vilozitățile coriale și tumori solide).

Pentru studiul de rutină al cromosomilor umani se utilizează ***culturile de limfocite***, deoarece sângele este ușor de prelevat, culturile durează numai 3 zile, pot fi stimulate pentru obținerea unui indice mitotic crescut și nu necesită dotări speciale. Stimularea diviziunilor celulare se face cu substanțe mitogene, în cazul limfocitelor T, fiind preferată *fitohemaglutinina.*

Blocarea diviziunilor într-o etapă în care cromosomii sunt bicromatidieni (profază, prometafază sau metafază) se face utilizând *substanțe statmokinetice*, precum *colchicina* și derivații ei, care inhibă formarea fusului de diviziune. Prin blocarea mitozei în profază sau prometafază se obțin cromosomi mai puțin condensați și se pot evidenția detalii de structură.

Obținerea unor preparate în care cromosomii sunt dispuși în același plan, la mică distanță unul de altul, fără alterări morfologice, se realizează prin:

- ***hipotonizare*** – determină dilatarea celulelor și dispersarea cromosomilor; se utilizează variate soluții hipotone (KCl, ser bovin fetal, citrat de sodiu);
- ***fixarea*** celulelor - întrerupe brusc activitatea vitală, păstrând morfologia celulelor; se realizează cu un amestec metanol:acid acetic glacial 3:1 v/v; se fac mai multe fixări (2-3) pe durate diferite de timp pentru a obține cromosomi de calitate cât mai bună;
- ***etalarea*** suspensiei celulare fixate pe o lamă de microscopie asigură dispunerea cromosomilor în același plan și accentuează dispersia produsă prin hipotonizare, rezultând *preparate definitive*;
- ***colorarea*** - după efectuarea preparatelor cromosomice, acestea sunt colorate cu coloranți bazici (soluție Giemsa), în cazul utilizării unui marcaj cromosomic înaintea colorării se aplică tratamentul de marcare a cromosomilor;
- ***examinarea la microscop*** - se aleg metafazele cu cromosomi bine dispersați, contractați și net conturați.

Prin analiză directă la microscopul optic este posibilă aprecierea cantitativă (numerică) şi calitativă (morfologică) a cromosomilor, ceea ce permite depistarea unor anomalii de număr sau de structură ale cromosomilor.

Numărul de metafaze analizate este variabil. În prezenţa unui preparat cromosomic normal sau a unei anomalii numerice omogene este suficientă analiza unui număr de 16-20 metafaze. Existenţa mai multor ***clone celulare*** (mozaic cromosomic) impune analiza unui număr sporit de metafaze (minimum 30) pentru aprecierea cât mai corectă a procentajului fiecărei linii.

Pentru analiza detaliată a cromosomilor, cea mai utilizată metodă este ***fotografierea*** unor metafaze, ***decuparea cromosomilor*** şi ***realizarea cariotipului.***

Cariotipul reprezintă dispunerea sistematizată, în perechi de omologi, a cromosomilor fotografiaţi şi decupaţi ai unei singure celule, pe baza lungimii, poziţiei centromerului sau altor criterii morfologice, precis codificate prin standarde internaţionale. La ora actuală există sisteme performante, asistate de computer, care permit realizarea directă a cariotipului, fără a fi necesară fotografierea şi decuparea cromosomilor, ceea ce reduce timpul de lucru şi creşte eficienţa analizei.

III.2.3.3. Clasificarea şi identificarea cromosomilor umani

În cazul unei colorații uniforme a cromosomilor (tehnică de generaţia I) identificarea cromosomilor umani se face pe baza unor ***criterii morfologice cantitative*** (lungimea cromosomului şi poziţia centromerului) şi ***calitative*** (constricţii secundare, sateliţi). Criteriile de identificare au fost codificate cu ocazia conferinţelor de standardizare într-un sistem internaţional de identificare şi nomenclatură (ISCN).

Criteriile morfologice de identificare sunt de două tipuri: ***cantitative*** şi ***calitative.***

Criteriile cantitative sunt reprezentate de: *lungimea cromosomilor şi poziţia centromerului.* Pe baza ***lungimii*** cromosomii umani se împart în mari, mijlocii şi mici. ***Poziţia centromerului*** se determină folosind *indicele centromeric* (Ic) care este raportul procentual dintre lungimea braţului scurt şi lungimea totală a cromosomului. Astfel, cromosomii se clasifică în: ***metacentrici*** (IC= 46-49) ***submetacentrici*** (IC= 26-45) şi ***acrocentrici*** (IC= 17-30).

Criteriile calitative sunt reprezentate de *sateliţi şi constricţiile secundare.* ***Sateliţii*** pot fi întâlniţi uneori în prelungirea braţelor scurte ale cromosomilor acrocentrici din grupele D (13, 14, 15) şi G (21 şi 22), cu

excepția cromosomului Y. Numărul de cromosomi cu sateliți și mărimea acestora variază de la o persoană la alta, constituind elemente ale polimorfismului cromosomilor umani.

Constricțiile secundare sunt segmente cromosomice despiralizate, slab colorate, prezente în regiunea juxtacentromerică a brațului lung al cromosomilor 1, 9 și 16, și mai rar pe alți cromosomi.

Folosind criterii cantitative, pot fi identificate *perechile de cromosomi omologi* (cromosomi identici ca formă și mărime, dar cu origine diferită: unul matern și altul patern) care se clasifică în 7 grupe notate cu majuscule de la A la G (tabelul III.4.).

Tabelul III.4. Clasificarea cromosomilor umani după lungime și poziția centromerului

	Lungimea cromosomului		
Poziția centromerului	*mari*	*mijlocii*	*mici*
metacentrici	A 1-3	E 16	F 19-20
submetacentrici	B 4-5	C 6-12, X	E 17-18
acrocentrici	-	D 13-15	G 21-22, Y

Identificarea cromosomilor pe baza criteriilor cantitative este dificilă, cu excepția cromosomilor din grupele A și E. Determinarea parametrilor cantitativi prin măsurători este susceptibilă de erori, iar valorile obținute sunt influențate de gradul de condensare al cromosomilor omologi.

Sistemul internațional de standardizare și nomenclatură - ISCN - stabilește simbolurile utilizate pentru descrierea cromosomilor normali și a anomaliilor cromosomice, precum și modul practic de reprezentare sau formulare al cariotipului.

Conținutul de informații cuprins în cariotip se redă astfel: *mai întâi se notează numărul total de cromosomi (autosomi + gonosomi) urmat, după o virgulă, de cromosomii sexuali.* De exemplu:

- *46,XX* - cariotip normal, sex genetic feminin (figura III.6..);
- *46,XY* - cariotip normal, sex genetic masculin (figura III.7.);

III.2.3.4. Tehnici de analiză cromosomică

Tehnicile de analiză cromosomică pot fi împărțite în patru generații:

- tehnici de generația a I-a – asigură colorarea uniformă a cromosomilor;
- tehnici de generația a II-a – asigură obținerea unui marcaj cromosomic metafazic;

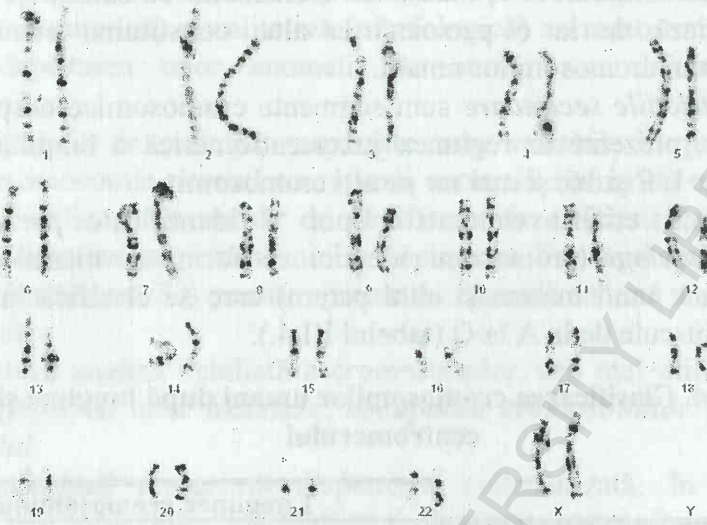


Figura III.6. Cariotip 46,XX cu marcaj G

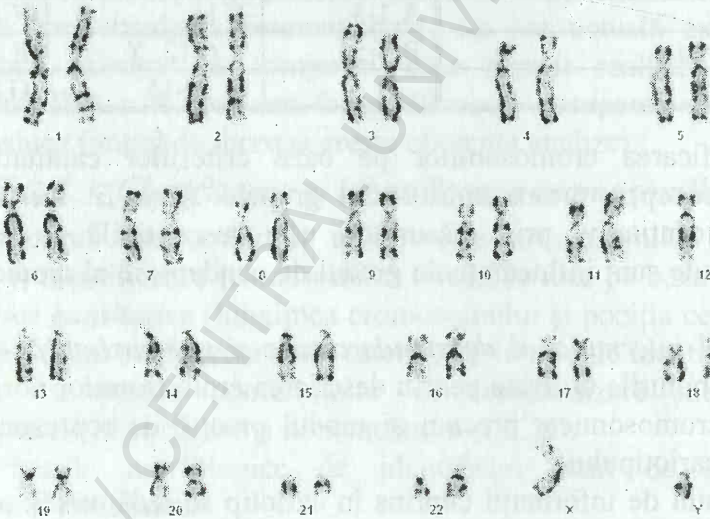


Figura III.7. Cariotip 46,XY cu marcaj G

- tehnici de generația a III-a – asigură obținerea unui marcaj cromosomic de înaltă rezoluție pe cromosomi prometafazici sau profazici;
- tehnici de generația a IV-a – de citogenetică moleculară şi de analiză computerizată a cromosomilor.

III.2.3.4.1. Tehnicile de generația a I-a.

Aceste tehnici asigură colorarea uniformă a cromosomilor. Folosind colorarea uniformă a cromosomilor este posibilă identificarea

BIBLIOTECA CENTRALĂ UNIVERSITARĂ

anomaliilor cromosomice numerice, iar cromosomii pot fi împărțiți doar pe grupe cromosomice. Tehnicile de acest tip au unele dezavantaje:

- nu identifică precis cromosomii și perechile de cromosomi omologi;
- nu permit identificarea anomaliilor de structură ale cromosomilor.

III.2.3.4.2. Tehnicile de generația a II-a

Identificarea precisă a fiecărui cromosom metafazic impune aplicarea de tehnici de marcaj cromosomic, care evidențiază de-a lungul fiecărui cromosom a unei alternanțe de zone clare (necolorate) și zone întunecate (colorate) dispuse transversal pe cromatide.

Banda este un segment cromosomic distinct, care se deosebește de benzile adiacente prin intensitatea colorației. Secvența acestor benzi constituie o ***caracteristică de specie***, fiind aceeași în toate celulele unui organism și la toți indivizii normali ai speciei.

Unele benzi sunt net conturate și reprezintă, alături de centromer și telomere, elemente importante pentru identificarea unui cromosom. Acestea constituie *repere* cromosomice și delimitează în lungul cromosomului mai multe regiuni.

Marcajul în benzi permite *identificarea precisă* a fiecărui cromosom, deoarece dispoziția benzilor reflectă structura internă a cromosomilor (alternanța regiunilor de eucromatină și heterocromatină). De asemenea, folosind marcajul în benzi este posibilă gruparea cromosomilor în perechi de omologi și identificarea anomaliilor cromosomice numerice sau structurale.

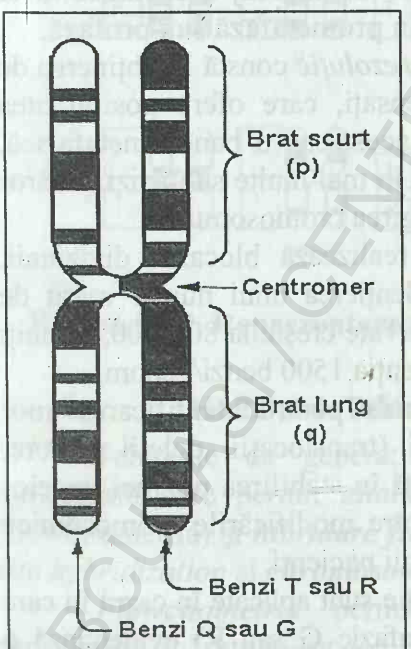


Figura III.8. Comparație între marcajele G/Q și R

Tehnicile de marcaj cromosomic se clasifică în: marcaje *generalizate* (marcaj Q, G și R) (figura III.8.) și marcaje *localizate* (marcaj C, T, NOR etc.).

Marcajul Q constă în benzi vizibile prin colorare cu quinacrină (sau alt fluorocrom) și examinare la microscop cu UV. Benzile Q pozitive sunt fluorescente (strălucitoare) iar cele negative sunt întunecate.

Marcajul G – se obține printr-o denaturare chimică (acizi, baze, enzime proteolitice sau soluții saline concentrate)

şi colorare cu soluţie Giemsa. Benzile Q şi G au aceeaşi dispoziţie şi corespund regiunilor de heterocromatină bogate în perechi de baze A-T.

Marcajul R se obţine prin denaturarea termică a ADN şi colorare cu soluţie Giemsa sau cu acridin orange. Benzile R au dispoziţie inversă (*reverse*) benzilor Q şi G. Benzile R intens colorate (pozitive) sunt echivalente benzilor mai slab colorate obţinute prin tehnicile Q şi G şi corespund regiunilor de eucromatină, bogate în perechi de baze G-C (figura III.8.).

Marcajul C evidenţiază benzi localizate în regiunea centromerică, în timp ce *marcajul T* decelează benzi localizate în regiunile telomerice. *Marcajul NOR* evidenţiază sateliţii cromosomilor acrocentrici, care conţin copii multiple ale ARN-ului ribosomal, asociate cu regiunile organizatoare ale nucleolului în interfază.

Conferinţa de standardizare şi nomenclatură a cromosomilor umani de la Paris (1971) a stabilit o reprezentare diagramatică a cromosomilor metafazici pe baza tipurilor de marcaj Q, R, G şi C, care cuprinde 322 benzi per set haploid (figura III.9.). Numărul de benzi observate în metafază, când cromosomii sunt puternic condensaţi, este de maximum 400 - 500 benzi/genom (cei 22 de autosomi şi cromosomii X şi Y).

III.2.3.4.3. Tehnici de generaţia a III-a

Tehnicile de generaţia a III-a asigură un marcaj a cromosomilor din celule a căror diviziune a fost blocată în prometafază sau profază. Avantajul acestor *tehnici speciale de înaltă rezoluţie* constă în obţinerea de preparate cu cromosomi mai puţin condensaţi, care oferă posibilitatea observării unui număr sporit de benzi. În acest caz o bandă metafazică, obţinută prin metoda standard, este separată în mai multe subbenzi, a căror evidenţiere devine mai uşoară odată cu alungirea cromosomului.

În raport cu perioada în care se realizează blocarea diviziunii, rezoluţia marcajului este diferită, prin evidenţierea unui număr mărit de benzi. În prometafază numărul de benzi observate creşte la 800-900, în timp ce analiza cromosomilor profazici poate evidenţia 1500 benzi/genom.

Metodele de înaltă rezoluţie sunt utile pentru identificarea unor anomalii de structură de mici dimensiuni (translocaţii, deleţii minore, duplicaţii, situsuri fragile). Ele au importanţă în stabilirea poziţiei genelor pe cromosomi şi permit corelaţii precise între modificările cromosomice minore şi unele aspecte clinice prezente la unii pacienţi.

În practică, marcajele de înaltă rezoluţie sunt aplicate în cazul în care examenul citogenetic de rutină (marcaj metafazic G sau R) evidenţiază o anomalie cromosomică structurală sau aspectul clinic al pacientului sugerează existenţa unei anomalii cromosomice structurale de mici dimensiuni.

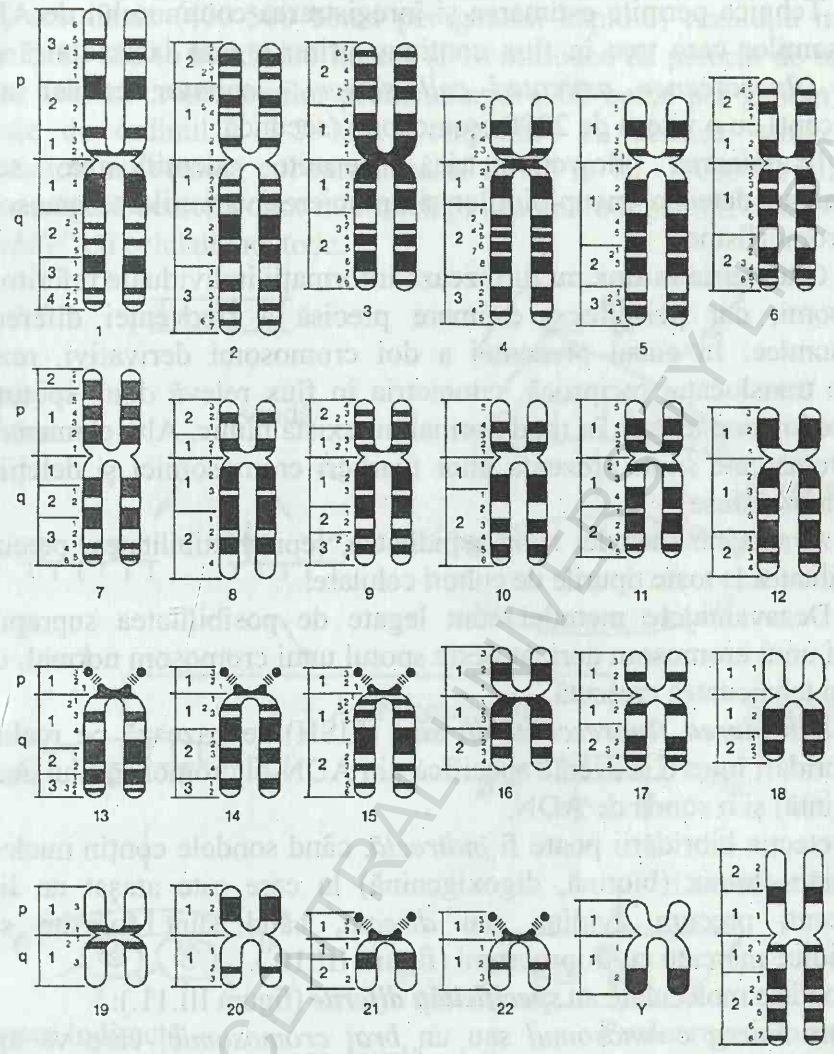


Figura III.9. Reprezentarea diagramatică a benzilor cromosomice (marcaj G)

III.2.3.4.4. Tehnici de generația a IV-a

Tehnicile de generația a IV-a sunt tehnici de citogenetică moleculară care permit ***analiza cromosomică prin citometrie in flux*** (flowcitometria) și ***hibridare fluorescentă in situ*** (***FISH*** - *Fluorescence in situ hybridization* și ***chromosomal painting***).

Flowcitometria permite analiza modificărilor complexe ale cariotipului apărute în cancer, fracționarea fizică a cromosomilor și crearea unor "biblioteci" cromosomice.

BUCUR / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Tehnica permite estimarea şi înregistrarea conţinutului de ADN al cromosomilor care trec în flux continuu printr-o rază laser emisă de un ***FACS*** (*fluorescence activated cell sorter* - sortator celular activat fluorescent) cu o viteza de 2000 cromosomi /secundă.

Examinarea flowcitometrică permite identificarea sexului persoanelor, detecţia aneuploidiilor şi aprecierea variaţiilor cromosomilor în heteromorfisme.

Citometria în flux nu furnizează informaţii individuale referitoare la cromosomi, dar permite o estimare precisă a frecvenţei diferenţelor cromosomice. În cazul prezenţei a doi cromosomi derivativi, rezultaţi printr-o translocaţie reciprocă, citometria în flux relevă două spoturi noi prezente în zone în care în mod normal nu există nimic. Alte elemente care pot fi remarcate sunt: prezenţa unor markeri cromosomici şi deleţiile de dimensiuni reduse.

Avantajele metodei sunt: rapiditatea, reproductibilitatea, precizia şi aplicabilitatea la toate tipurile de culturi celulare.

Dezavantajele metodei sunt legate de posibilitatea suprapunerii spotului unui cromosom derivat peste spotul unui cromosom normal, costul ridicat şi tehnicitatea crescută.

Hibridarea fluorescentă in situ (FISH) se bazează pe realizarea unei hibridări între o secvenţă specifică din ADN-ul cromosomului analizat (ADN ţintă) şi o sondă de ADN.

Detecţia hibridării poate fi *indirectă,* când sondele conţin nucleotide modificate chimic (biotină, digoxigenină) la care este ataşat un ligand fluorescent, precum avidina sau *directă*, când sunt folosite sonde nucleotidice marcate cu fluorocromi (figura III.10.).

Sondele moleculare au ***specificităţi diferite*** (figura III.11.):

- pentru *întreg cromosomul* sau un *braţ cromosomic*, care va apărea colorat distinct de ceilalţi cromosomi (tehnica de "*pictare*" a cromosomilor – eng. "*chromosome painting*");
- pentru *secvenţele de ADN* centromeric – permit evidenţierea cromosomului respectiv în nuclei interfazici (de exemplu, în trisomii vor fi evidenţiate trei semnale fluorescente);
- sonde specifice unui *locus* din structura unui cromosom – permite evidenţierea unor deleţii (va fi vizualizat un semnal de hibridare unic, specific locusului studiat);
- sonde *multi-locus* - evidenţiază mai mulţi loci din structura unui cromosom.

Rezoluţia tehnicii FISH este foarte înaltă, ceea ce permite evidenţierea unor ***anomalii cromosomice submicroscopice***. În cazul unui

marcaj metafazic (400-500 benzi per genom haploid) rezoluția metodei este de 5-10 Mb (o bandă are între 5 şi 10 milioane de perechi de baze) în timp ce analiza cromosomilor prometafazici (900 benzi per genom) are o rezoluție de ordinul a 3-5 Mb. Comparativ cu acestea, tehnicile de citogenetică moleculară coboară această limită la 10 - 1000 de kilobaze, ceea ce asigură detecția unor microdelеții sau microduplicații cromosomice "*invizibile*" cu celelalte metode.

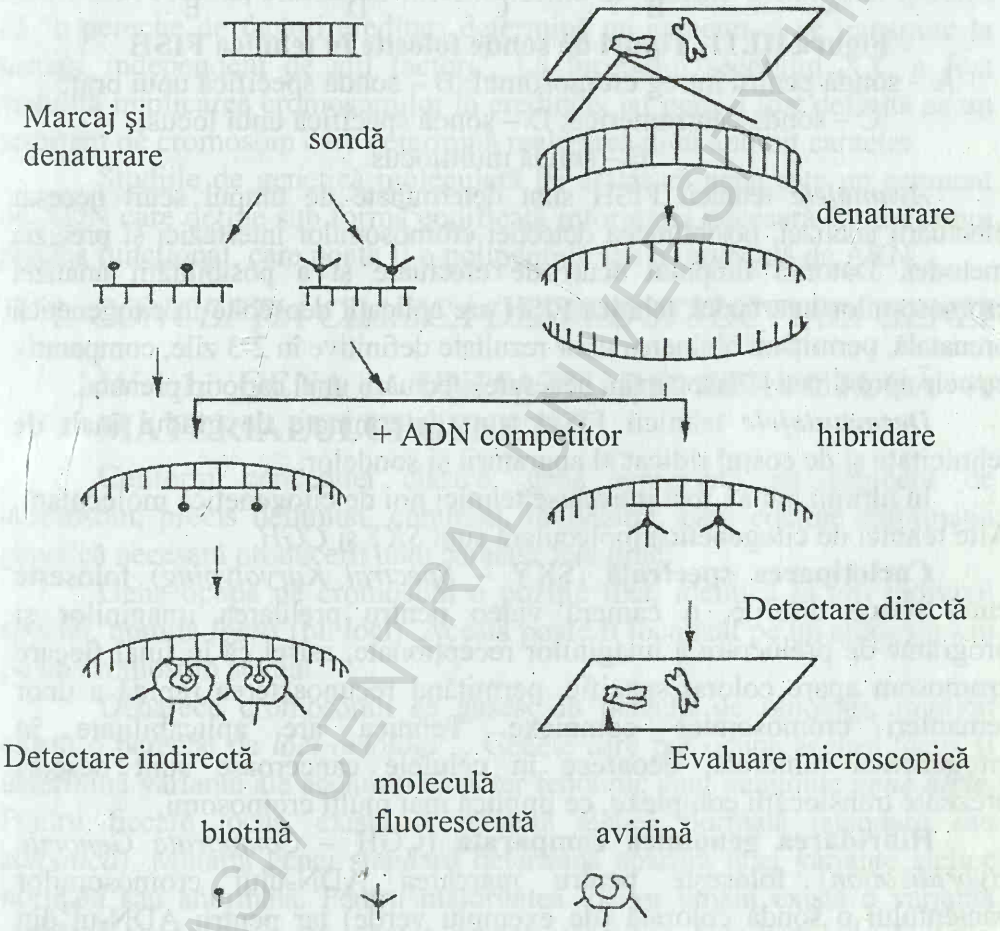


Figura III.10. Principiul hibridării fluorescente *in situ* (FISH)

Alegerea sondelor moleculare şi a "*țintei*" (cromosom metafazic, nucleu interfazic, fibră de cromatină decondensată) respectiv a celulelor utilizate (fetale, somatice, tumorale, gameți) depinde de scopul analizei, determinat de o situație clinică dată. Multitudinea sondelor, țintelor şi celulelor studiate asigură tehnicilor de citogenetică moleculară o largă aplicație practică, în diagnostic şi cercetare.

UMF IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

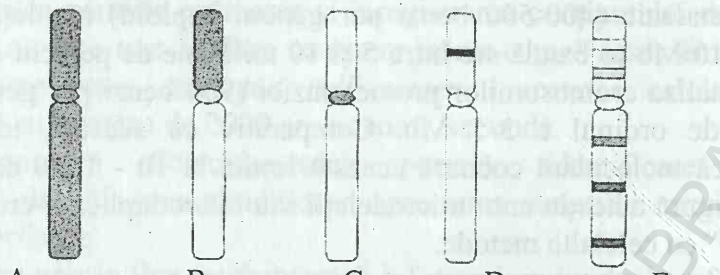


Figura III.11. Tipuri de sonde folosite în tehnica FISH
A – sondă pentru întreg cromosomul; B – sondă specifică unui braţ;
C – sondă centromerică; D – sondă specifică unui locus;
E – sondă multilocus

Avantajele tehnicii FISH sunt determinate de timpul scurt necesar efectuării analizei, posibilitatea detecţiei cromosomilor interfazici şi precizia metodei. Datorită timpului scurt de efectuare şi a posibilităţii analizei cromosomilor interfazici, tehnica FISH are aplicaţii deosebite în citogenetica prenatală, permiţând obţinerea unor rezultate definitive în 2-3 zile, comparativ cu cele aproximativ 3 săptămâni necesare efectuării unui cariotip prenatal.

Dezavantajele tehnicii FISH sunt determinate de gradul înalt de tehnicitate şi de costul ridicat al aparaturii şi sondelor.

În ultimii ani au fost introduse tehnici noi de citogenetică moleculară. Alte tehnici de citogenetică moleculară sunt *SKY* şi *CGH*.

Cariotiparea spectrală (SKY – *Spectral Karyotyping*) foloseşte cinci sonde diferite, o cameră video pentru preluarea imaginilor şi programe de prelucrare a imaginilor recepţionate, astfel că în final fiecare cromosom apare colorat specific, permiţând recunoaşterea rapidă a unor remanieri cromosomice complexe. Tehnica are aplicabilitate în citogenetica tumorală, deoarece în celulele canceroase sunt deseori prezente translocaţii complexe, ce implică mai mulţi cromosomi.

Hibridarea genomică comparată (CGH – *Comparate Genomic Hybridization*) foloseşte pentru marcarea ADN-ului cromosomilor pacientului o sondă colorată (de exemplu verde) iar pentru ADN-ul din celulele normale, folosite ca martor, o altă culoare (de exemplu roşu). Ambele tipuri de ADN se hibridează cu cromosomii unei metafaze normale. Dacă în ADN-ul pacientului există o duplicaţie (trisomie parţială) se va produce o hibridare în exces între ADN-ul pacientului şi ADN-ul normal, evidenţiată prin colorarea în verde. Dacă în ADN-ul pacientului există o deleţie (monosomie parţială) se va produce o hibridare preferenţială între ADN-ul martor şi ADN-ul normal, evidenţiată prin colorarea în roşu.

IV. GENA - UNITATE DE STRUCTURĂ, FUNCȚIE ŞI MUTAȚIE

Noțiunea de genă, definită ca unitate de structură şi funcție a materialului genetic, a fost introdusă în biologie de către Gregor Mendel, în anul 1865. Acesta, analizând diferite forme de mazăre a formulat ipoteza că "o pereche de factori ereditari determină un caracter şi se transmite la urmaşi independent de alți factori". La începutul secolului XX, a fost stabilită implicarea cromosomilor în ereditate, iar gena a fost definită ca un segment de cromosom care determină realizarea unui anumit caracter.

Studiile de genetică moleculară au arătat că gena este un segment de ADN care deține sub formă codificată informația necesară sintezei unui produs funcțional, care poate fi o polipeptidă sau o moleculă de ARN.

IV.1. CONCEPȚIA CLASICĂ DESPRE STRUCTURA GENEI

IV.1.1. GENA - UNITATE DE STRUCTURĂ A MATERIALULUI GENETIC

Conform concepției clasice, gena reprezintă un segment de cromosom, precis delimitat, continuu, indivizibil, care conține informația genetică necesară producerii unui caracter fenotipic.

Gena ocupă pe cromosom o poziție fixă, identică la toți indivizii speciei, numită ***locus*** (pl. loci). Acesta poate fi localizat pe un autosom sau pe un cromosom sexual.

Deoarece cromosomii se găsesc în perechi de omologi, implicit există o pereche de *loci omologi*[28]. Genele care pot ocupa acelaşi locus şi determină variante ale aceluiaşi caracter fenotipic sunt denumite ***gene alele***. Pentru fiecare locus, există o variantă alelică normală (standard sau *sălbatică*). Mutația genei standard determină apariția unei variante alelice normală sau anormală. Pentru majoritatea locilor umani există o variantă standard şi una mutantă, aspect ce caracterizează fenomenul de ***bialelie***. Există însă şi situații în care gena standard a suferit mai multe mutații, rezultând variante alelice diferite sau alele multiple, fenomenul fiind numit ***polialelie***. Un exemplu în acest sens este locusul pentru genele sistemului de grup sanguin AB0, pentru care există patru alele A_1, A_2, B şi 0.

Perechea de gene alele care ocupă locii omologi reprezintă ***genotipul***. În cazul în care locii omologi sunt ocupați de aceeaşi variantă

[28] Cu excepția locilor de pe cromosomii sexuali la bărbați

alelică, individul este ***homozigot*** pentru locusul respectiv. În situaţia în care locii omologi sunt ocupaţi de variante alelice diferite, individul este ***heterozigot*** pentru locusul respectiv. Heterozigoţii pot prezenta variante normale ale aceleiaşi gene (de exemplu, pentru sistemul AB0: A_1A_2, A_10, A_1B, A_20, A_2B sau B0) sau pot avea o alelă normală şi una anormală, mutantă (Na sau An[29]). Rareori, heterozigoţii prezintă două alele mutante diferite, situaţie în care ei sunt consideraţi *heterozigoţi compuşi*. O situaţie particulară apare la bărbaţi în cazul genelor de pe cromosomii X şi Y. În acest caz, pentru fiecare locus există o singură genă şi nu o pereche de gene alele, persoana fiind considerată ***hemizigotă.*** Datorită multitudinii de loci, fiecare om va fi homozigot pentru unii loci şi heterozigot pentru alţi loci.

În meioză, cromosomii omologi segregă[30], iar fiecare gamet conţine câte un singur cromosom din fiecare pereche. Homozigoţii produc un singur tip de gameţi, fiind ***homogametici***. La heterozigoţi se formează două tipuri de gameţi, cu câte una din cele două alele, fiind ***heterogametici***[31].

IV.1.2. ÎNLĂNŢUIREA GENICĂ

Fiecare cromosom conţine o succesiune de loci, care sunt ocupaţi de diferite gene nealele. Aceste gene sunt dispuse liniar pe cromosomi, ca mărgelele într-un şirag, fenomen numit ***sintenie.***

În cursul meiozei, împreună cu cromosomul respectiv, genele de pe acelaşi cromosom au tendinţa de a se transmite împreună ("în bloc") de la părinţi la descendenţi. Acest fenomen prin care genele nealele, situate învecinat pe acelaşi cromosom, nu segregă în meioză şi se transmit mai frecvent împreună se numeşte ***înlănţuire genică*** (engl. - *linkage*).

Genele înlănţuite dintr-o regiune cromosomică sau de pe un cromosom formează un grup de înlănţuire sau un ***haplotip***.

Fenomenul de înlănţuire se referă la loci (nu la alele) şi nu este un fenomen absolut, deoarece numai genele situate foarte aproape una de alta se transmit întotdeauna împreună, înlănţuite. De exemplu, genele locilor C, D, E care determină grupul sanguin Rh, localizaţi pe cromosomul 1, se transmit întotdeauna împreună, fenomenul de înlănţuire fiind *complet*.

Pentru genele situate la distanţă unele de altele, pe acelaşi cromosom, înlănţuirea genică este *incompletă*. Această particularitate este

---

[29] În funcţie de raportul de forţă dintre genele normală şi anormală bolile monogenice se împart în boli dominante şi recesive. În bolile dominante gena anormală, notată A, este dominantă, iar cea normală este recesivă, fiind notată n. În bolile recesive gena normală este dominantă, fiind notată N, iar cea anormală este recesivă, fiind notată a.

[30] Vezi diviziunea celulei

[31] Vezi legile lui Mendel

determinată de posibilitatea apariției în profaza meiozei primare a unei recombinări genice. În cursul pahitenului (cea de-a treia etapă a profazei I) la nivelul punctelor de încrucișare (*chiasmate*) dintre cromatidele nesurori ale cromosomilor omologi se produc rupturi cromosomice, urmate de schimbul egal de fragmente cromosomice, fenomen numit ***crossing-over*** (CO)[32]. Astfel, anumite gene trec de pe un cromosom pe omologul său, rezultând o recombinare a genelor parentale. Numărul de recombinări dintre cromosomii omologi depinde de lungimea acestora, fiind mai mare la cromosomii mari. În aceste condiții, între două gene nealele situate la distanță, pe același cromosom, se pot produce mai multe încrucișări. Totuși, recombinarea genică se produce numai dacă cromatida suferă un număr impar de crossing-over-uri între cei doi loci.

Fenomenele de înlănțuire și recombinare genică au aplicații practice în cartografierea genelor pe cromosomi și diagnosticul genotipic al unor boli.

Recombinările genice intracromosomice, produse în meioză prin crossing-over, sunt fenomene aleatorii. Probabilitatea de producere a unui crossing-over între doi loci este direct proporțională cu distanța fizică dintre ele. Astfel, probabilitatea apariției unei recombinări este cu atât mai mică, cu cât genele sunt localizate mai apropiat.

Recombinările genice între doi loci, situați pe același cromosom, pot fi evidențiate prin studii familiale. Demonstrarea prezenței unei înlănțuiri sau recombinări genică implică analiza distribuției cromosomilor în meioză și a modului în care aceștia se transmit prin gameți la descendenți. Comparând structura genică a cromosomilor urmașilor cu cea a cromosomilor parentali se poate aprecia frecvența de producere a recombinărilor între două gene (loci) și distanța dintre ele, respectiv poziția lor în cromosomi.

Înlănțuirea genică și încrucișarea cromosomică sunt importante pentru cartografierea genomului uman și descifrarea mecanismelor de producere a unor mutații.

Studiul înlănțuirii și recombinării genice sunt utilizate pentru localizarea genelor pe cromosomi, analiză care se bazează pe următoarele elemente:

- două gene care se transmit strâns înlănțuit la descendenți sunt localizate pe același cromosom;
- frecvența de producere a crossing-over-ului între două gene este direct proporțională cu distanța dintre ele, iar prin studii familiale, calculând frecvența de recombinare a genelor la descendenți, se poate stabili indirect poziția acestora pe cromosomi.

[32] vezi meioza

Uneori, recombinarea genică din meioză se poate produce aberant, rezultând un crossing-over inegal, care poate genera mutaţii genice sau anomalii de structură ale cromosomilor. Aceste anomalii sunt favorizate de împerecherea imperfectă a unor secvenţe asemănătoare de pe cromosomii omologi. Consecinţa acestor recombinări inegale este apariţia unor deleţii sau duplicaţii genice sau cromosomice (figura IV.1.).

În majoritatea cazurilor, crossing-over-ul inegal are consecinţe fenotipice negative, determinând diverse boli genetice.

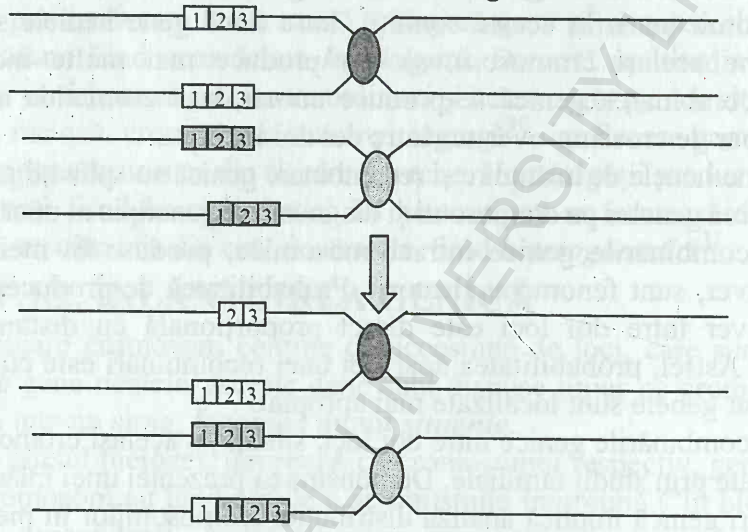


Figura IV.1. Mecanismul de producere al unui crossing-over inegal

În practica medicală, fenomenul de înlănţuire genică este folosit pentru studiul transmiterii unei gene mutante într-o familie în care există cazuri de boală monogenică, permiţând diagnosticul prenatal sau presimptomatic al afecţiunii. Diagnosticul este stabilit indirect, prin analiza distribuţiei la descendenţi a genei marker normală cu care gena mutantă este înlănţuită.

IV.2. CONCEPŢIA ACTUALĂ DESPRE STRUCTURA GENEI

Concepţia actuală despre structura şi funcţia genei se bazează pe tehnicile de analiză moleculară a ADN, care au permis izolarea, clonarea şi secvenţializarea genelor. Aceste metode, care constituie ***tehnicile ADN-ului recombinant***, au revoluţionat genetica şi medicina ultimelor trei decenii.

În concepţia actuală gena reprezintă ***unitatea de structură şi funcţie a ADN-ului***. Gena este un segment de ADN care conţine secvenţe pentru sinteza unui produs funcţional (polipeptidă sau moleculă de ARN) precum şi secvenţele reglatoare necesare controlului expresiei genice.

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Definirea precisă spațială, structurală și funcțională a genei este dificilă deoarece:

- gena are limite imprecise, greu de definit;
- la eucariote gena este discontinuă, fiind alcătuită din regiuni transcrise și translate (exoni) regiuni transcrise, dar netranslate (introni) și regiuni netranscrise (cu sau fără rol reglator);
- o genă poate codifica una sau mai multe proteine;
- lungimea genelor este variabilă și nu există un model structural unic, valabil la toate genele.

Genele care codifică proteine prezintă o parte centrală, transcrisă (copiată în ARN mesager precursor) care conține mesajul codificat pentru sinteza proteinei, flancată de două părți laterale, netranscrise, cu rol reglator, denumite 5' sau 3' în raport cu polaritatea moleculei de ADN (figura IV.2.).

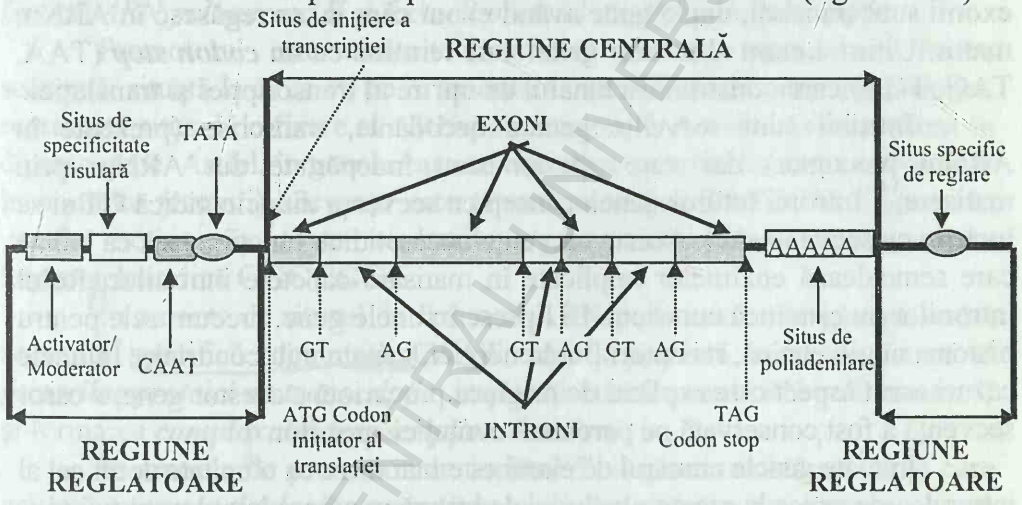


Figura IV.2. Structura unei gene care codifică o proteină

IV.2.1. REGIUNEA CENTRALĂ A GENEI

Regiunea centrală a genei constituie *cadrul de lectură*, deoarece reprezintă regiunea genică care este copiată în ARNm. Ea conține mai multe categorii de secvențe de ADN cu funcție diferită.

Toate genele au la capătul 5' al regiunii centrale un ***situs de inițiere a transcripției***. Nucleotida corespunzătoare acestui situs este cel mai frecvent o bază purinică, fiind numită și "*cap site*", deoarece în cursul transcripției determină adăugarea la extremitatea 5' a ARNm a 7-metilguanozinei, denumită în engleză "*cap*" (bonetă). În aval de situsul de inițiere a transcripției se găsesc o secvență nucleotidică necodantă cu

lungime variabilă şi ***codonul iniţiator ATG***[33], care semnalează locul de debut a translaţiei. Codonul ATG codifică metionina, dar nu toate proteinele au ca prim aminoacid metionina datorită procesării posttranslaţionale a lanţurilor peptidice.

Regiunea situată între situsul de iniţiere a transcripţiei şi codonul ATG este transcrisă, dar nu este translată. După codonul iniţiator, la nivelul părţii centrale a genei poate fi identificată o alternanţă de secvenţe translate şi netranslate, numite exoni şi introni.

Exonii sunt secvenţele de ADN transcrise în ARN mesager precursor şi păstrate în ARNm matur. Ei reprezintă regiunile funcţionale ale genei şi codifică anumite segmente proteice, cu rol structural sau funcţional, numite domenii. Unele gene conţin exoni identici, ceea ce explică prezenţa unor domenii similare în proteine diferite. Totuşi nu toţi exonii sunt translaţi, unele gene având exoni care nu se regăsesc în ARNm matur. Ultimul exon al tuturor genelor se termină cu un ***codon stop*** (TAA, TAG, TGA) care constituie semnalul de oprire al transcripţiei şi translaţiei.

Intronii sunt secvenţe genice necodante, transcrise (prezente în ARNm precursor) dar care ulterior sunt îndepărtate din ARNm prin matisare[34]. Intronii tuturor genelor încep cu secvenţa dinucleotidică GT şi se încheie cu secvenţa AG. Aceste secvenţe nucleotidice funcţionează ca balize care semnalează enzimelor implicate în matisare capetele intronilor. Rolul intronilor nu este încă cunoscut. Ei lipsesc în unele gene, precum cele pentru histone, angiotensină, receptori β-adrenergici, genele mitocondriale. În unele cazuri acest aspect este explicat de originea procariotă a acestor gene, a căror secvenţă a fost conservată pe parcursul evoluţiei speciilor.

În toate genele numărul de exoni este mai mare cu o unitate decât cel al intronilor, deoarece la capetele cadrului de lectură se găsesc întotdeauna exoni.

După ultimul exon, spre capătul 3' al genei se găseşte un ***hexanucleotid*** (AATAAA) care este semnalul de recunoaştere pentru enzimele implicate în secţionarea ARN mesager precursor.

Ultimul element al regiunii centrale a genei este situat la 18-20 p.b. în aval de hexanucleotidul AATAAA şi constituie ***situsul de poliadenilare***, ultima secvenţă genică transcrisă. Prin copierea situsului de poliadenilare, la ARNm precursor se adaugă un segment de circa 200 nucleotide care conţin adenozină. Acestea intervin în stabilizarea moleculei de ARNm pe timpul transportului din nucleu în citoplasmă.

---

[33] pe catena copiată se găseşte codonul TAC, iar pe catena necopiată, numită şi catenă sens, deoarece are aceeaşi secvenţă ca şi ARNm, codonul iniţiator este ATG

[34] matisarea este procesul de maturare a ARNm prin care intronii sunt îndepărtaţi, iar exonii sunt asamblaţi specific, ceea ce determină formarea ARNm matur

IV.2.2. REGIUNILE LATERALE ALE GENEI

IV.2.2.1. Regiunea 5'

Toate genele prezintă în amonte de cadrul de lectură o secvență netranscrisă (figura IV.2.) imprecis delimitată, cu funcție reglatoare, care modifică cantitativ și calitativ transcripția regiunii centrale a genei. Majoritatea genelor eucariotelor au la acest nivel o structură asemănătoare, conservarea ei pe parcursul evoluției constituind un argument corelat cu importanța funcțională a acestei regiuni. La nivelul acestei regiuni au fost identificate trei secvențe de ADN cu funcție bine definită.

Cel mai aproape de regiunea centrală a genei se găsește secvența ***promotor.*** Aceasta are circa 300 pb. și are o structură similară în toate genele care codifică proteine. În cursul transcripției la nivelul regiunii promotor se fixează *ARN polimeraza II* și *factorii proteici* implicați în transcripție.

Promotorul este alcătuit din două secvențe particulare. Prima secvență, situată la circa 30 pb în amonte de situsul de inițiere a transcripției, reprezintă situsul de fixare al ARN-polimerazei II. Acest situs este diferit în diverse gene. Astfel, în genele care au activitate specific tisulară (active doar în anumite țesuturi) secvența este tetranucleotidică **TATA**, în timp ce în genele active în toate țesuturile (gene domestice) secvența este heptanucleotidică **GGGCGGG**.

În amonte de situsul de fixare al ARN-polimerazei, se găsește o altă secvență specifică, denumită **CAAT**, care reprezintă locul de fixare al ***factorilor proteici de transcripție***, implicați în activarea ARN polimerazei II și formarea ***complexului transcripțional activat.***

În amonte de promotor, la capătul 5' al genei, există secvențe care asigură ***expresia tisulară a anumitor gene.*** Activarea acestor secvențe este inițiată de fixarea unor factori tisulari specifici (extracelulari). Aceste secvențe permit transcripția genei respective doar în anumite celule. De exemplu, gena care asigură sinteza hormonilor tiroidieni este activă doar în tireocite, deși gena este prezentă în toate celulele organismului.

În regiunea 5', cel mai periferic sunt localizate ***secvențele activatoare*** ("*enhancers*") sau ***moderatoare*** ("*silencers*") ***ale transcripției.*** Aceste secvențe asigură modularea calitativă a activității genei dependent de intervenția unor factori exogeni sau endogeni extracelulari.

IV.2.2.2. Regiunea laterală 3'

Fiecare genă prezintă în regiunea 3' o secvență netranscrisă, care este imprecis delimitată dar care are rol funcțional. În această regiune se găsesc

secvenţe care modifică procesarea, stabilitatea şi durata de viaţă a ARNm. Unele gene au în regiunea 3' a genei secvenţe reglatoare de tip *enhancer*.

IV.2.3 TIPURI DE GENE

Genele umane se împart în două mari categorii: **gene care codifică proteine şi gene care codifică produşi funcţionali**.

Majoritatea genelor umane codifică proteine care au numeroase funcţii: proteine structurale (proteinele membranare, proteinele citoscheletului etc.) proteine de trasnport, hormoni, receptori, enzime, proteine reglatoare, molecule semnalizatoare etc. Genele care codifică proteine pot fi grupate în două categorii: gene ubicuitare şi gene tisulare.

Genele ubicuitare codifică proteine implicate în desfăşurarea normală a proceselor celulare (producerea energiei celulare, stocarea energiei etc.). Aceste gene se exprimă în toate celulele organismului, iar transcripţia lor este permanentă, deşi se desfăşoară într-un ritm lent. Aceste gene conţin în regiunea promotor una sau mai multe secvenţe heptanucleotidice GGGCGGG, dar nu conţin secvenţele TATA şi CAAT.

Genele tisulare, deşi sunt prezente în toate celulele organismului sunt active doar în anumite ţesuturi şi/sau în anumite perioade ale vieţii. Transcripţia lor este dependentă de intervenţia unor factori reglatori locali, care se fixează la nivelul situsului de specificitate tisulară din regiunea 5' a genei. În raport cu numărul de repetiţii a genei în genom genele tisulare pot fi clasificate în: gene unice, familii de gene şi familii de supergene.

Genele unice (cvasiunice) au o structură asemănătoare cu cea descrisă mai sus. Prin duplicaţia unora din aceste gene au rezultat copii cvasiidentice (de regulă transcrise aleatoriu) sau gene care diferă puţin fără alterarea funcţiei (expresia genică se realizează în perioade ontogenetice diferite sau în organe diferite).

Familiile de gene sunt constituite din gene cu structură asemănătoare, care codifică proteine similare, precum sunt genele α şi β globinei, colagenului, actinei şi miozinei, pigmenţilor vederii colorate etc.

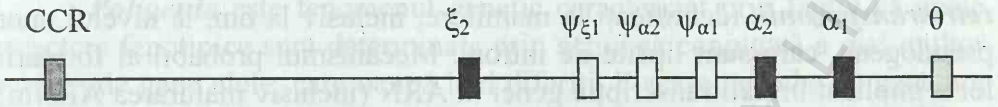
De obicei, genele din aceeaşi familie sunt localizate în aceeaşi regiune cromosomică, ceea ce este un argument care sprijină teoria originii prin duplicaţii multiple a unei gene ancestrale. Unele dintre genele familiei sunt active, în timp ce altele sunt nefuncţionale, constituind *pseudogene*.

Un exemplu de familii genice este cel al genelor α-globinei şi β-globinei (figura IV.3.). Aceste gene au o structură similară, fiind alcătuite din 3 exoni şi 2 introni şi au derivat prin duplicaţii succesive dintr-o genă ancestrală.

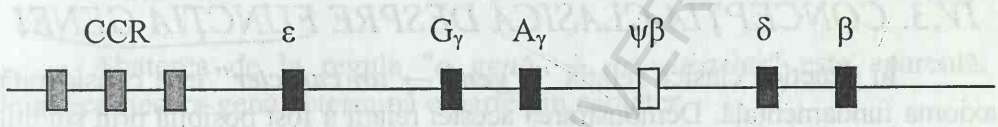
Familia genelor α-globinei este situată la capătul distal al braţului scurt al cromosomului 16 (16p13). Ea conţine 4 gene funcţionale: ξ2, α2, α1 şi θ.

Exprimarea acestor gene duce la sinteza unei polipeptide cu 141 aminoacizi. Între genele ξ2 și α2 sunt intercalate și 3 pseudogene: $\psi_{\xi 1}$, $\psi_{\alpha 2}$, și $\psi_{\alpha 1}$.

Familia genelor β-globinei este localizată la extremitatea distală a brațului scurt al cromosomului 11 (11p15). Ea conține cinci gene funcționale (ε, G_γ, A_γ, δ și β) și o pseudogenă (ψβ). Fiecare din cele cinci gene funcționale codifică o polipeptidă cu 147 aminoacizi.



Domeniul genic al α-globinei



Domeniul genic al β-globinei

Figura IV.3. Familiile genelor α-globinei și β-globinei
CCR – Centru de control regional

În cazul ambelor familii de gene există centri de control regional (unul în cazul familiei genei α-globinei, respectiv 3 în cazul familiei β-globinei) care au rolul de a controla activarea anumitor gene, în concordanță cu etapa ontogenetică de dezvoltare.

Genele care determină ***sinteza unui produs funcțional*** asigură sinteza ARNr și ARNt.

IV.2.4. ELEMENTE GENETICE MOBILE

Datele de genetică moleculară au arătat că unele secvențe genice nu au o poziție fixă în genom, fiind capabile să își schimbe localizarea. Aceste secvențe nu există în formă liberă (individualizată) în celulă și sunt numite ***elemente genetice mobile*** sau ***transposoni***. Transpozonii au origine bacteriană și conțin genele care codifică proteinele necesare inserției lor în genomul celulei gazdă (transpoază, rezolvază) precum și 1-2 gene diferite (de exemplu genele pentru rezistența la antibiotice).

O particularitate a transpozonilor este prezența la extremități a unor secvențe terminale inversate. Unii transpozoni se pot insera aleatoriu în

genom, în timp ce alţii au o structură mai complexă, care implică inserţia lor într-un situs precis al genomului.

Rolul transposonilor nu este complet elucidat, dar se pare că ei sunt implicaţi în transferul genelor de rezistenţă la antibiotice de la o bacterie la alta, în reprogramarea activităţii genetice prin inactivarea unor gene, apariţia unor "*puncte fragile*" cromosomice la nivelul punctului de inserţie.

O altă categorie de elemente genetice mobile o reprezintă ***retrotranspozonii,*** identificaţi la mamifere, inclusiv la om, la nivelul unor pseudogene, care sunt lipsite de introni. Mecanismul probabil al formării lor a implicat iniţial transcripţia genei în ARN (inclusiv maturarea ARNm) urmată de retranscriere prin intermediul unei transcriptaze inverse. Astfel, rezultă o secvenţă de ADN complementar ARNm, care se integrează apoi în genom într-un mod similar retrovirusurilor.

IV.3. CONCEPŢIA CLASICĂ DESPRE FUNCŢIA GENEI

În genetica clasică relaţia ***"o genă → un caracter"*** este considerată axioma fundamentală. Demonstrarea acestei relaţii a fost posibilă prin studiul mutaţiilor, deoarece modificarea structurii genei determină o modificare ereditară a caracterului fenotipic produs de genă. Prin analiza efectelor fenotipice ale mutaţiilor a fost identificată existenţa a numeroase gene.

Majoritatea genelor normale sunt denumite abreviat în raport cu efectul genei mutante, iar numele locusului genei este dependent de prima mutaţie detectată. De exemplu, *CF* în mucoviscidoză de la *cystic fibrosis*, *FH* în hipercolesterolemia familială de la *familial hypercolesterolemia*, *PKU* în fenilcetonurie de la *phenylketonuria* etc. Genele dominante sunt notate cu majuscule, iar cele recesive cu minuscule.

În genetica clasică, gena este considerată ***unitate de funcţie şi de mutaţie***. Concepţia clasică poate fi rezumată prin următoarele relaţii:

O GENĂ ⟶ **UN CARACTER FENOTIPIC**

BOALĂ ⟶ **FUNCŢIE GENICĂ**

Relaţia **"o genă → un caracter"** este complexă deoarece:

- există numeroase caractere fenotipice determinate ***poligenic*** sau ***multifactorial*** – în acest caz fenotipul este determinat de acţiunea cumulativă a mai multor perechi de gene nealele, la care este asociată şi intervenţia unor factori ambientali;
- unele gene au efecte fenotipice multiple, determinând mai multe caractere, fenomenul fiind numit ***pleiotropie***;

- acțiunea unei gene poate fi influențată de alte gene sau de factori de mediu, fiind condiționate efectul genei, momentul sau tipul celular al exprimării genei;
- mutații ale unor gene diferite se pot manifesta fenotipic identic sau asemănător - fenomen denumit ***heterogenitate genetică***.

IV.3.1. POLIGENIA

Poligenia este fenomenul genetic caracterizat prin faptul că unele caractere fenotipice sunt determinate prin acțiunea conjugată a mai multor perechi de gene alele, care ocupă loci diferiți. Fiecare pereche de gene are *efecte cantitative mici și aditive* (cumulative) prezentate schematic astfel:

MAI MULTE GENE ⟶ **UN CARACTER FENOTIPIC**

Abaterea de la regula "*o genă → un caracter*" este aparentă, deoarece fiecare genă determină o parte din caracter.

Numărul de gene implicate în determinismul diferitelor caractere poligenice este necunoscut. Deoarece pentru fiecare locus există mai multe variante genice, cu efect fenotipic diferit, distribuția caracterului respectiv în populație corespunde unei curbe de tip Gaussian (distribuție continuă). De exemplu, în cazul tensiunii arteriale, valorile medii ale tensiunii sistolice normale variază între 80 și 130 mm Hg, iar distribuția tensiunii într-o populație neselecționată este continuă (figura IV.4.).

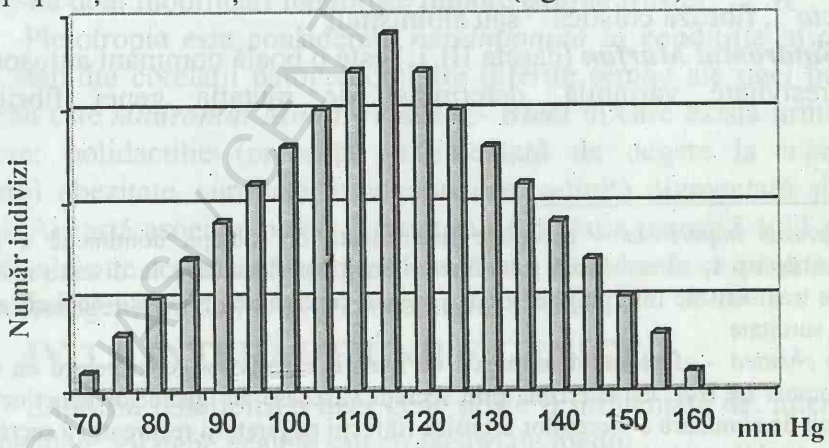


Figura IV.4. Distribuția valorilor normale ale tensiunii arteriale sistolice într-un lot populațional neselecționat

Genele care determină un caracter fenotipic poligenic acționează independent unele de altele, iar expresia fenotipică a genelor este frecvent

influenţată de factori de mediu. De aceea, majoritatea caracterelor poligenice sunt produse prin acţiunea combinată a mai multor factori genetici şi a unor factori ambientali, fiind astfel de fapt ***caractere multifactoriale***.

Dintre caracterele poligenice (multifactoriale) normale pot fi enumerate: talia, tensiunea arterială, culoarea pielii, inteligenţa, dermatoglifele etc.

În categoria caracterelor multifactoriale anormale intră bolile comune ale adultului – ulcerele gastrice şi duodenale, astmul bronşic, schizofrenia, diabetul zaharat - malformaţiile congenitale izolate şi unele forme de cancer.

Unele caractere fenotipice poligenice sunt de fapt ***oligogenice,*** deoarece în determinismul lor intervin două categorii de gene: unele cu efect fenotipic major şi altele cu efect minor.

IV.3.2. PLEIOTROPIA

Pleiotropia este fenomenul genetic caracterizat prin efecte fenotipice multiple determinate de o singură genă mutantă (dominantă) sau o pereche de gene mutante (recesive). Pleiotropia a fost identificată în numeroase sindroame. Există două tipuri de pleiotropie: pleiotropie relaţională şi pleiotropie nerelaţională.

Pleiotropia este considerată *relaţională* în condiţiile în care între mutaţia genică şi efectele fenotipice a fost stabilită o corelaţie patogenică. Exemple de pleiotropie relaţională sunt: sindromul Marfan, *osteogenesis imperfecta*[35], fibroza chistică[36] sau albinismul[37].

Sindromul Marfan (caseta III.1.) este o boală dominant autosomală cu expresivitate variabilă, determinat de mutaţia genei fibrilinei.

---

[35] *Osteogenesis imperfecta* – afecţiune determinată de mutaţia dominantă a genei colagenului de tip I, caracterizată prin fracturi multiple (localizate la diverse niveluri, produse de traumatisme minime) deformaţii osoase, hipostatură, anomalii oculare, sclere albastre şi surditate

[36] *Fibroza chistică* – afecţiune determinată de mutaţia recesivă a genei pentru un canal transmembranar de clor, caracterizată prin secreţii vâscoase ale glandelor exocrine care induc deficit de eliminare a secreţiilor bronşice (infecţii respiratorii recurente) a secreţiilor pancreatice (maldigestie şi malabsorbţie intestinală) a secreţiilor biliare (litiază biliară) a secreţiilor genitale masculine (sterilitate masculină) şi o eliminare crescută de clorură de sodiu prin sudoraţie.

[37] *Albinismul* - afecţiune determinată de mutaţia recesivă a genei tirozinazei, enzimă ce asigură sinteza melaninei. Boala se caracterizează prin absenţa pigmentării pielii, părului şi pupilelor şi risc crescut pentru cancerul cutanat şi afecţiuni degenerative retiniene.

Afecțiunea prezintă trei categorii majore de semne clinice: oculare, scheletice și cardiovasculare.

Caseta III.1.

Sindromul Marfan

Incidență – 1/10.000 de nou-născuți
Tip de transmitere – dominant autosomal
Genetică – mutația genei fibrilinei
Patogenie – prezența unei fibriline anormale determină modificări ale țesutului conjunctiv din sistemul osteoarticular, pereții vasculari și ligamentul suspensor al cristalinului.
Diagnostic clinic – se bazează pe evidențierea a trei categorii de semne și simptome:
- *oculare* – miopie, ectopie cristaliniană;
- *scheletice* – membre lungi și subțiri (*dolicostenomelie)* deformări sternale *(pectus excavatum sau carinatum*) scolioză, degete lungi și subțiri (*arahnodactilie*) și hipermobilitate articulară (luxații frecvente);
- *cardiovasculare* – regurgitație a sângelui din ventricolul în atriul stâng datorită prolapsului de valvă mitrală[38] și dilatații ale peretelui aortic (anevrisme) care induc o insuficiență ventriculară stângă.

Diagnostic paraclinic – radiografii scheletice, ecografie cardiacă, aortografie, examene oculare.
Prognostic –risc crescut de moarte subită prin ruptura peretelui aortic și risc de moarte prin insuficiență cardiacă.
Tratament – corectarea deficitelor de vedere, evitarea eforturilor fizice mari, medicație β-blocantă pentru a reduce forța contracției cardiace.

Datorită expresivității variabile[39] o serie de pacienți prezintă semne din toate cele trei categorii enumerate mai sus, în timp ce alți indivizi afectați au doar modificări fenotipice minore (forme fruste).

Pleiotropia este considerată *nerelațională* în condițiile în care nu pot fi stabilite corelații patogenice între diferite semne ale unei boli. Un exemplu este ***sindromul Moon - Bardet - Biedl*** în care există următoarea asociere: polidactilie (prezența suplimentară de degete la mâini sau picioare) obezitate, surditate, hipogonadism, retinită pigmentară și retard mintal. Această asociere poate fi produsă de mutația recesivă a 11 perechi de gene alele ce acționează independent, astfel încât boala se caracterizează și prin eterogenitate de locus (vezi capitolul IV.3.4.).

IV.3.3. INTERACȚIUNILE GENICE

Expresia fenotipică a unei gene poate fi influențată de: interacțiuni cu gene alele, cu gene nealele sau cu factori de mediu.

[38] Prolaps de valvă mitrală – intrarea valvelor mitrale în atriul stâng în cursul sistolei ventriculare

[39] Expresivitate variabilă – manifestări fenotipice diferite ale mutației aceleiași gene la diferiți membri afectați ai aceleiași familii

BCU CLUJ CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

IV.3.3.1. Interacţiuni alelice

Între genele alele, care ocupă loci omologi se stabilesc **relaţii de forţă,** care influenţează manifestarea fenotipică a genelor la persoanele heterozigote. Există două categorii de relaţii: dominanţă/recesivitate şi codominanţă.

În cazul relaţiei de **dominanţă/recesivitate**, una dintre gene se manifestă mai puternic, fiind considerată *dominantă*, în timp ce cealaltă se manifestă mai slab, fiind considerată *recesivă.*

Gena dominantă este manifestă, atât la homozigoţi, cât şi la heterozigoţi, aceştia din urmă având un fenotip identic cu cel al homozigoţilor pentru gena dominantă. Gena recesivă este manifestă doar la homozigoţi, la heterozigoţi manifestarea ei fenotipică fiind mascată de acţiunea genei dominante. Un exemplu de dominanţă/recesivitate îl constituie relaţia dintre genele A_1 şi 0 în cadrul sistemului de grup sanguin AB0, gena A_1 fiind dominantă, iar gena 0 recesivă. La homozigoţii A_1A_1 şi heterozigoţii A_10 se manifestă doar gena A_1, aceste persoane având grup sanguin A_1, în timp ce homozigoţii 00 au grup sanguin 0 (tabelul IV.1.).

Tabelul IV.1. Relaţiile dintre genele A_1 şi 0 în cadrul sitemului de grup sanguin AB0

$A_1 > 0$			
Genotip	**Fenotip**		
	Antigen	**Anticorpi**	**Grup sanguin**
A_1A_1 A_10	A_1	β şi anti-H	A_1
00	H	α şi β	0

Totuşi, în cazul unor gene între care există o relaţie de dominanţă/recesivitate fenotipul heterozigoţilor este doar similar cu cel al homozigoţilor pentru gena dominantă, relaţia fiind considerată de ***semidominanţă***. Un exemplu de semidominanţă apare în cazul caracterului gustător, determinat de perechea de gene G (dominantă) şi g (recesivă). Persoanele care au gena G sunt considerate gustătoare şi percep gustul amar al feniltiocarbamidei, în timp ce homozigoţii gg sunt consideraţi negustători şi percep feniltiocarbamida ca o substanţă insipidă. Totuşi, gustătorii pot fi diferenţiaţi în două categorii: unii care percep gustul amar la concentraţii infime ale substanţei şi alţi care simt gustul amar doar la concentraţii mari ale feniltiocarbamidei. Primii sunt homozigoţi GG, iar cea de-a doua categorie sunt heterozigoţi Gg (tabelul IV.2.).

Semidominanţa a fost identificată în numeroase boli cu transmitere dominantă. În aceste afecţiuni homozigoţii AA sunt mai grav afectaţi decât

heterozigoții An și fac forme grave de boală, ce induc pierderea produsului de concepție sau debut la vârste tinere.

Tabelul IV.2. Relația genotip – fenotip pentru caracterul gustător

G > g		
Genotip	**Fenotip**	
GG	Gustător	Percepe gustul amar al feniltiocarbamidei la concentrații infime
Gg	Gustător	Percepe gustul amar al feniltiocarbamidei la concentrații mari
gg	Negustător	Percepe feniltiocarbamida ca o substanță insipidă

În cazul relației de ***codominanță***, ambele gene implicate se manifestă la fel de puternic. În acest caz, la heterozigoți se manifestă ambele gene, iar fenotipul este diferit de cel al ambelor tipuri de homozigoți. Un exemplu de codominanță îl constituie relația dintre genele A_1 și B în cadrul sistemului de grup sanguin AB0. La homozigoții A_1A_1 se manifestă doar gena A_1, la homozigoții BB se manifestă doar gena B, în timp ce la heterozigoții A_1B se manifestă ambele gene (tabelul IV.3.).

Tabelul IV.3. Relațiile dintre genele A_1 și B în cadrul sistemului de grup sanguin AB0

A_1 = B			
Genotip	**Fenotip**		
	Antigen	**Anticorpi**	**Grup sanguin**
A_1A_1	A_1	β și anti-H	A_1
A_1B	A_1 și B	anti-H	A_1B
BB	B	α și anti-H	B

Noțiunile de dominanță/recesivitate și codominanță sunt valabile doar la nivel de fenotip, în timp ce la nivel molecular (biochimic) toate genele se manifestă. Totuși, genele sunt în continuare clasificate pe baza teoriei clasice în: dominante, recesive și codominante.

IV.3.3.2. Interacțiuni nealelice

Expresia fenotipică a unei perechi de gene alele este uneori influențată și de acțiunea altor perechi de gene alele, care ocupă loci diferiți de pe același cromosom sau de pe cromosomi diferiți. Acest fenomen genetic este denumit ***epistazie***. Fenomenul de epistazie a fost identificat în numeroase lanțuri metabolice, în care două sau mai multe perechi de gene,

care codifică enzime, interacţionează pentru realizarea unui caracter fenotipic. Dacă una din aceste gene suferă o mutaţie este suprimat efectul celeilalte/celorlalte gene, deoarece în absenţa primei enzime, produsă de gena mutantă, întreg lanţul metabolic este blocat.

Un exemplu de epistazie îl reprezintă statusul secretor, definit prin capacitatea unor indivizi, consideraţi secretori, de a elimina (secreta) antigenele grupului sanguin AB0 în secreţiile apoase ale organismului (salivă, sudoare, lacrimi, lapte, lichid spermatic etc.).

Caracterul secretor este determinat de o pereche de gene alele: **Se** (dominantă) şi **se** (recesivă). Persoanele secretoare au cel puţin o genă **Se**, genă care codifică o enzimă care asigură modificarea solubilităţii antigenelor AB0, care din liposolubile devin hidrosolubile, trecând în secreţii. Persoanele nesecretoare, care sunt homozigote **sese**, nu au în secreţii antigenele AB0, deşi pe hematii aceste antigene sunt prezente, iar acţiunea genelor AB0 este normală.

O altă situaţie în care a fost identificată epistazia apare în cazul unor organe a căror dezvoltare depinde de intervenţia mai multor gene.

De exemplu, dezvoltarea normală a aparatului auditiv este dependentă de acţiunea unor gene care controlează formarea normală a cohleei şi a unor gene care controlează dezvoltarea nervului auditiv.

Mutaţia recesivă a oricăreia dintre aceste gene produce surditate, chiar dacă cealaltă pereche de gene este normală, deoarece pentru recepţia normală a sunetelor sunt necesare atât o cohlee normală, cât şi un nerv acustic normal.

Studiile de genetică clasică au evidenţiat existenţa unor gene modificatoare, care influenţează cantitativ intensitatea de expresie a altor gene şi determină diferite grade de expresivitate. Prezenţa genelor modificatoare este certă în unele boli autosomale cu manifestare mai frecventă sau exclusivă la un anumit sex, precum calviţia frontală, guta şi keratoza palmoplantară, mai frecvente la bărbaţi sau aplazia emailului dentar şi căderea precoce a dinţilor, mai frecvente la femei.

IV.3.3.3. Interacţiunile genelor cu mediul

Expresia fenotipică a genelor poate depinde de acţiunea unor factori ambientali. Evidenţierea intervenţiei factorilor de mediu a fost posibilă în cazul unor boli dominante cu manifestare fenotipică variabilă, precum: *penetranţa incompletă* şi *expresivitatea variabilă*.

Penetranţa este o noţiune cantitativă evidenţiată în bolile dominante şi definită prin raportul înmulţit cu 100 dintre numărul de indivizi care manifestă boala şi numărul de purtători ai genei mutante A

(relația IV.1). Penetranța este evaluată prin studiul mai multor familii, determinând frecvența manifestării genei mutante în raport cu numărul total de purtători.

$$p = \frac{B}{AA + An} \times 100 \qquad \text{IV.1.}$$

unde:

p – penetranță:

B – număr bolnavi;

AA – număr homozigoți pentru gena dominantă anormală;

An – număr heterozigoți

Penetranța poate fi *completă* sau *puternică* în situația în care boala este manifestă la toți heterozigoții, iar valoarea indicelui *p* este 1.

Există o serie de boli dominante în care genele mutante au o ***penetranță incompletă*** sau *redusă*. În aceste cazuri, unele persoane heterozigote An, deși au gena anormală, nu manifestă semne de boală. În bolile cu penetranță incompletă, persoanele heterozigote An, aparent sănătoase, pot transmite gena anormală la o parte dintre copii, care pot fi afectați. Astfel, deşi boala este dominantă nu se mai respectă criteriul transmiterii continue a bolii în succesiunea generațiilor, boala "mimând" o transmitere recesivă

Exemple de boli dominante cu penetranță incompletă sunt: exostoza multiplă[40], care are o penetranță de 60%, otoscleroza[41], cu o pentranță de 50%, retinoblastomul[42], cu penetranță de 80% sau *osteogenesis imperfecta*, cu o penetranță de 90%.

Expresivitatea este o noțiune cantitativă reprezentată de gradul sau intensitatea de manifestare fenotipică a unei gene mutante. ***Expresivitatea variabilă*** se caracterizează prin manifestarea variabilă a aceleiaşi boli la indivizi afectați din aceeaşi familie sau din familii diferite.

Expresivitatea variabilă a fost identificată în special în bolile produse prin mutații dominante ale unor gene cu efect pleiotrop. În aceste cazuri expresivitatea variabilă poate interesa: spectrul de semne manifeste, severitatea afecțiunii, vârsta de debut a bolii sau a unor elemente componente. De exemplu, la bolnavii cu sindrom Marfan pot să nu apară

---

[40] prezența de excrescențe la nivelul a diferite oase, care pot determina tulburări ale mobilității articulare

[41] produce surditate datorită deteriorării componentelor urechii medii

[42] tumoră de tip embrionar, deosebit de agresivă, dezvoltată din celulele retinei, cu transmitere dominant autosomală, determinată de mutația genei Rb (localizată 13q14) care determină orbire precoce datorită afectării bilaterale

toate cele trei categorii de semne (scheletice, oculare, cardiovasculare) sau severitatea clinică poate să fie diferită.

Penetranța şi expresivitatea sunt rezultatul interacțiunii genei cu alte gene şi cu diferiți factori din mediu.

Cunoaşterea existenței manifestărilor variabile a unor boli este importantă, deoarece poate influența calitatea diagnosticului şi permite acordarea unui sfat genetic corect, fără a se face o evaluare greşită a riscului de recurență la urmaşi.

Intervenția factorilor de mediu este certă şi în afecțiuni recesive. De exemplu, efectele nocive ale fenilcetonuriei pot fi contracarate prin eliminarea fenilalaninei din dietă, astfel încât poate fi prevenit retardul mintal, principala complicație a bolii.

Un alt exemplu al interacțiunii dintre gene şi factorii de mediu este reprezentat de relevarea deficitului de glucozo-6-fosfat dehidrogenază în prezența unor agenți oxidanți (antimalarice de sinteză, antibiotice de tip sulfonamidă, substanțele conținute de bob - o specie de fasole - *Vicia faba*). În condiții normale de viață pacienții cu deficit de glucozo-6-fosfat dehidrogenază nu au nici un semn de boală. În schimb, agenții oxidanți induc episoade tranzitorii de anemie hemolitică.

IV.3.4. ETEROGENITATEA GENETICĂ

Eterogenitatea genetică reprezintă fenomenul genetic caracterizat prin prezența unor fenotipuri identice sau asemănătore, determinate de mutații genice diferite. Eterogenitatea poate fi de trei tipuri: eterogenitate de locus sau nonalelică, eterogenitate alelică şi eterogenitate clinică.

Eterogenitatea de locus apare în situația în care mutații ale unor gene diferite produc un fenotip identic. Eterogenitatea de locus a fost evidențiată prin analiza unor arbori genealogici a unor familii diferite, în care o boală genetică se manifestă identic.

Analiza genealogică a relevat modalități diferite de transmitere ale aceleiaşi afecțiuni, dovedind existența de mutații în loci diferiți.

Există numeroase afecțiuni în care a fost identificată eterogenitatea de locus, majoritatea acestor boli fiind caracterizate prin modificarea unor structuri anatomice sau funcționale complexe sau prin alterarea în diverse etape ale unui lanț metabolic, dependent de acțiunea mai multor enzime.

Cel mai complex exemplu de eterogenitate de locus a fost identificat în cazul retardului mental de cauză genetică, existând nenumărate afecțiuni ereditare ce prezintă retard mental izolat sau asociat altor anomalii. Unele din afecțiunile caracterizate prin eterogenitate de locus sunt prezentate în tabelul IV.4.

Tabelul IV.4. Afecțiuni caracterizate prin eterogenitate genetică de locus

Boală	Caracteristici clinice	Loci cunoscuți
Retinită pigmentară	Retinopatie progresivă cu pierderea vederii	20 de loci
Osteogenesis imperfecta	Numeroase fracturi la traumatisme minore, surditate, sclere albastre	7, 17
Boala Charcot-Marie-Tooth	Neuropatie periferică	1, 5, 8 , 11, 17, X
Boala Alzheimer	Demență senilă progresivă	1, 14, 19, 21
Melanomul familial	Tumori maligne derivate din melanocite	1, 9
Hemofilia	Tulburări de coagulare, sângerări masive, hemoragii interne și intraarticulare	X
Cancerul colorectal nonpolipozic ereditar	Cancer colorectal cu transmitere dominant autosomală	2p, 2q, 3, 7
Cancer de sân dominant autosomală	Debut precoce al cancerului de sân și ovarian	13, 17
Scleroza tuberoasă	Crize comițiale, angiofibroame faciale, macule tegumentare hipopigmentate, retard mental	9, 16
Boala polichistică renală a adultului	Dezvoltarea a numeroși chiști diseminați în rinichi → insuficiență renală cronică	4, 16

Un exemplu de eterogenitate genetică de locus este retinita pigmentară prezentată în caseta IV.2. Retinita pigmentară reprezintă cea mai frecventă cauză genetică de pierdere a vederii și este caracterizată printr-o degenerescență progresivă a celulelor fotoreceptoare și a vaselor retiniene, asociată cu depuneri pigmentare pe retină.

Până la ora actuală au fost identificate trei forme de retinită pigmentară cu transmitere recesivă legată de cromosomul X, cinci forme cu transmitere recesivă autosomală și douăsprezece forme cu transmitere dominant autosomală. Dacă sunt luate în considerare și sindroamele care asociază retinită pigmentară, numărul formelor de retinită pigmentară ajunge la 30.

Datorită eterogenității genetice de locus, în unele boli recesiv autosomale, precum surditatea monogenică, doi părinți bolnavi, amândoi homozigoți pentru o genă anormală recesivă (a_1a_1 și a_2a_2) au toți copii sănătoși, dublu heterozigoți (N_1a_1 și N_2a_2). Acest fenomen este numit ***complementație interalelică***.

Eterogenitatea alelică este caracterizată prin faptul că mutații diferite ale unei gene determină fenotipuri asemănătoare. Un exemplu de eterogenitate alelică îl constituie ***distrofiile musculare: Duchenne*** și ***Becker*** (caseta IV.3.).

Caseta IV.2.

Retinita pigmentară

Incidenţă – 1/3.000 – 1/4.000 de nou-născuţi

Tip de transmitere – dominant autosomal (5 forme) recesiv autosomal (12 forme) recesiv legat de cromosomul X (3 forme)

Genetică – mutaţia genei rodopsinei (3q) genei proteinelor fototransductoare (6p, 6q) genei miozinei VIIa (produce sindromul Usher – asociere de retinită pigmentară şi surditate) (11q) genelor proteinelor structurale ale segmentului extern a discurilor fotoreceptoare (4p, 5q, 11q) genei transportoare a fotoreceptorilor (1p)

Patogenie – degenerescenţă progresivă a celulelor fotoreceptoare, începând cu celulele cu bastonaşe şi sfârşind cu cele cu conuri, asociată cu degenerescenţă a vaselor retiniene şi depunere de pigment pe retină.

Diagnostic clinic – se bazează pe: pierderea vederii nocturne, pierderea vederii diurne şi apariţia vederii în tunel.

Diagnostic paraclinic – examen de fund de ochi – depunere caracteristică de pigment pe retină.

Prognostic –risc crescut de orbire.

Tratament – *nu există tratament patogenic; suplimentarea dietei cu vitamină A.*

Caseta IV.3.

Distrofia musculară

DISTROFIA DUCHENNE	DISTROFIA BECKER
Incidenţă – 22/100.000 nou-născuţi băieţi;	***Incidenţă*** –3,8/100.000 băieţi;
Tip de transmitere – recesiv legat de cromosomul X;	***Tip de transmitere*** – recesiv legat de cromosomul X;
Genetică – deleţia genei distrofinei (localizată Xp21) determină absenţa sintezei distrofinei	***Genetică*** – mutaţia genei distrofinei determină sinteza unei proteine anormale;
Patogenie – absenţa distrofinei determină: leziuni membranare ale fibrei musculare şi anomalii ale joncţiunii sinaptice; fibrele musculare sunt înlocuite cu ţesut conjunctiv;	***Patogenie*** – prezenţa distrofinei anormale are efecte mai reduse asupra fibrei musculare decât absenţa completă a proteinei;
Diagnosticul clinic – se bazează pe: - apariţia de slăbiciune musculară la nivelul membrelor inferioare, asociată cu probleme de mers (urcatul scărilor) şi greutăţi la ridicatul de pe scaun, începând cu vârsta de 3 ani; - paralizie a membrelor inferioare începând cu vârsta de 10 –12 ani; - deces la 20 de ani prin insuficienţă respiratorie sau cardiacă;	***Diagnosticul clinic***: - apariţia tardivă (după 20-25 de ani) a slăbiciunii musculare la nivelul membrelor inferioare; - paralizia membrelor inferioare poate fi absentă sau apare tardiv; - rareori decesul se produce prin insuficienţă respiratorie sau cardiacă;
Diagnostic paraclinic – nivel crescut de 50-100 de ori al creatininei serice, absenţa distrofinei în muşchi, identificarea mutaţiei prin tehnici de analiză a ADN-ului;	***Diagnostic paraclinic*** – nivel crescut al creatininei serice, prezenţa unei cantităţi reduse de distrofină în muşchi, identificarea mutaţiei prin tehnici de analiză a ADN-ului;
Prognostic –deces la 20-25 de ani;	***Prognostic*** –deces la 50-60 de ani;
Tratament – *nu există tratament.*	**Tratament** – *nu există tratament.*

O altă afecțiune caracterizată prin eterogenitate alelică este ***mucoviscidoza***, existând forme complete, forme fără insuficiență pancreatică și forme manifeste doar prin sterilitate masculină, datorită absenței congenitale bilaterale a ducturilor deferente.

În unele afecțiuni genetice, există atât eterogenitate alelică, cât și de locus. Un exemplu este ***sindromul Ehlers-Danlos***. Boala este o afecțiune a țesutului conjunctiv, produsă de un defect al colagenului și caracterizată clinic prin hiperelasticitate cutanată, hiperlaxitate articulară și fragilitate cutanată crescută. Pe baza semnelor clinice afecțiunea a fost subîmpărțită în mai multe subtipuri. În sindromul Ehlers Danlos există, atât eterogenitate genetică de locus, deoarece au fost identificate forme cu transmitere dominant autosomală (majoritatea) dar și forme recesive (autosomale sau legate de cromosomul X) cât și eterogenitate genetică alelică, deoarece mutații diferite ale genei colagenului produc manifestări clinice diferite.

Totuși, eterogenitatea alelică nu produce totdeauna fenotipuri asemănătoare. În unele situații mutații diferite ale aceleași gene determină apariția unor fenotipuri complet diferite - ***eterogenitate clinică***. Un exemplu de eterogenitate clinică a fost identificat în ***sindroamele Hurler*** și ***Scheie***.

Ambele afecțiuni fac parte din grupul ***mucopolizaharidozelor*** (boli caracterizate prin stocarea de mucopolizaharide în lizozomi) fiind determinate de mutația genei α-L-iduronidazei și având o transmitere recesiv autosomală. În sindromul Hurler deficitul enzimatic este complet, în timp ce în sindromul Scheie enzima prezintă doar o activitate redusă.

Activitatea enzimatică este concordantă cu fenotipul. Astfel, în sindromul ***Hurler*** debutul este precoce (6-18 luni) iar simptomatologia este severă: dizostoze multiple, blocaje articulare, hepatosplenomegalie, facies grosolan, hidrocefalie, opacifieri corneene, retard mental și deces înainte de vârsta de 10 ani.

În schimb, în sindromul ***Scheie***, debutul este după vârsta de 5 ani, iar simptomatologia este mai puțin severă, fiind caracterizată prin: blocaje articulare, boli cardiace valvulare, opacifieri corneene, deficite vizuale, dar fără a exista retard mental și fără a fi limitată speranța de viață.

Cunoașterea existenței fenomenului de eterogenitate genetică este importantă pentru stabilirea disgnosticului clinic și etiologic, pentru inițierea unui tratament corect și pentru acordarea unui sfat genetic corect.

Un exemplu este ***hemofilia***, boală în care au fost identificate două forme cu transmitere recesivă legată de cromosomul X (hemofilia A și hemofilia B). Ambele afecțiuni se caracterizează clinic prin hemoragii care apar în țesuturile moi sau intrarticular, în urma unor traumatisme minore sau postoperator, fiind de obicei masive și de lungă durată.

Hemofilia A este determinată de mutaţia genei factorului de coagulare VIII şi se caracterizează prin absenţa în ser a acestuia sau prezenţa unei cantităţi insuficiente de proteină (<30% din valoarea normală).

Hemofilia B este determinată de mutaţia genei factorului de coagulare IX şi se caracterizează prin prezenţa unei cantităţi insuficiente de proteină (<30% din valoarea normală).

Ambele afecţiuni beneficiază de tratament substitutiv, fiind importantă recunoaşterea tipului de boală, deoarece, de exemplu, tratamentul cu factor de coagulare IX în hemofilia A este ineficient, pacientul necesitând administrarea de factor de coagulare VIII.

În afecţiunile cu eterogenitate genetică de locus este importantă identificarea tipului de transmitere, deoarece aceasta permite calcularea riscului de recurenţă la descendenţi. Astfel, în formele dominant autosomale de retinită pigmentară, riscul unui bolnav de a avea un copil afectat este de 50%, în timp ce în formele recesive pacienţii pot avea copii bolnavi doar dacă se căsătoresc cu persoane heterozigote.

IV.4. CONCEPŢIA ACTUALĂ DESPRE FUNCŢIA GENEI

IV.4.1. GENELE CONTROLEAZĂ SINTEZA PROTEINELOR

Genetica clasică postula relaţia ***"o genă → un caracter"*** fără a explica modalitatea prin care gena determină caracterul respectiv.

Pe parcursul secolului XX o serie de descoperiri au relevat faptul că relaţia "o genă → un caracter" este mai complexă, secvenţele codante de ADN asigurând şi sinteza diferitelor tipuri de ARN, astfel încât la ora actuală relaţia a devenit ***"o genă → un produs funcţional"***.

Primul care a stabilit o corelaţie între o genă şi o proteină a fost medicul englez Garrod, care, în 1902, a descris prima eroare înnăscută de metabolism: ***alcaptonuria***. Studiind pacienţii cu artrită, Garrod a observat că la unii dintre aceştia urina se înnegreşte prin expunere la aer, iar cartilagiile sunt colorate în brun-negru. Studiile de biochimie au arătat că aceşti pacienţi prezentau niveluri crescute de acid homogentizic, datorită unui blocaj enzimatic la nivelul căii de metabolizare a fenilalaninei. Astfel, Garrod a stabilit o relaţie clară între gene şi enzime, introducând în medicină conceptul de ***"erori înnăscute de metabolism"***.

Ulterior, numeroase alte studii, efectuate pe microorganisme, plante, animale şi om, au demonstrat că genele exercită controlul asupra fenotipului prin intermediul proteinelor. Acest lucru este posibil deoarece,

pe de o parte proteinele posedă o complexitate structurală deosebită, iar pe de altă parte au un important rol structural, catalitic sau reglator.

Relația "o genă → o proteină" a devenit ulterior ***"o genă → o polipeptidă"***, deoarece studiile moleculare au confirmat faptul că unele proteine sunt formate din două sau mai multe lanțuri peptidice, fiecare dintre acestea fiind codificate de gene distincte.

În final relația "o genă → o polipeptidă" a fost înlocuită de cea ***"o genă → un produs funcțional"***, deoarece a fost dovedit faptul că unele gene nu codifică proteine, ci determină sinteza unor molecule de ARN.

Astfel, conform concepției actuale ***gena este segmentul de ADN care conține informația genetică necesară sintezei unui produs funcțional.*** Genele care codifică proteine sunt considerate ***gene structurale.***

IV.4.2. RELAȚIA O GENĂ → O PROTEINĂ

Mesajul codificat necesar asamblării într-o anumită ordine a aminoacizilor în proteină este conținut de genele structurale. Existența relației ***"o genă → o proteină"*** poate fi demonstrată prin studiul mutațiilor unei gene și a efectelor acestor mutații la nivel fenotipic.

Un exemplu îl constituie ***drepanocitoza (sicklemia*** sau ***anemia cu hematii în formă de seceră).*** În 1956, Ingram a stabilit că în cazul drepanocitozei există o corelație între o mutație genică (la nivelul lanțului β al hemoglobinei) și prezența unei proteine anormale (hemoglobina S).

Sicklemia a fost prima boală monogenică, la care a fost depistat mecanismul patogenic.

Drepanocitoza este o boală genetică, cu transmitere recesiv autosomală. Incidența bolii este de aproximativ 1/400 – 1/600 de nou-născuți la populațiile originare din Africa, bazinul mediteranean, Orientul mijlociu și India. Incidența crescută a afecțiunii în aceste regiuni este rezultatul avantajului selectiv pe care îl au heterozigoții sănătoși (**Na**) care posedă protecție naturală împotriva malariei, parazitoză endemică în regiunile respective.

Drepanocitoza este manifestă la homozigoții **aa** și se caracterizează prin anemie hemolitică severă. În formele acute pacienții prezintă dureri la diverse niveluri (mâini, picioare, abdomen – splină, mezenter, ficat, pancreas) induse de *microinfarctele* rezultate prin obstrucția capilarelor. *Hemoliza cronică* determină splenomegalie, ceea ce în timp duce la *pierderea funcției imune a splinei.* Hipofuncția splenică explică susceptibilitatea crescută la infecții bacteriene, în special pulmonare, care constituie cauza principală de deces.

Heterozigoţii – Na – sunt sănătoşi şi prezintă doar aşa-numită "*trăsătura sicklemică*", caracterizată prin apariţia de crize de hemoliză în condiţii de hipoxie (ascensiuni montane, zbor în avioane nepresurizate).

Descifrarea mecanismului patogenic al bolii a început în 1949, când Pauling a demonstrat la pacienţii cu sicklemie existenţa unei anomalii de migrare electroforetică a hemoglobinei. La pacienţii cu sicklemie banda corespunzătoare hemoglobinei (HbS) este localizată diferit, comparativ cu persoanele normale (HbA). La heterozigoţi, electroforeza relevă două benzi corespunzătoare HbS şi HbA, ceea ce sugerează existenţa unui amestec a celor două tipuri de hemoglobină.

În 1956, Ingram a arătat că HbS are la nivelul catenei β a globinei, în poziţia 6, valină în loc de acid glutamic. Această modificare minoră a moleculei de hemoglobină este răspunzătoare pentru anomaliile eritrocitare –"*hematii în seceră*" - şi particularităţile clinice din sicklemie.

Hemoglobina S prezintă o afinitate normală pentru oxigen, în condiţiile unei concetraţii normale de gaz. În schimb, în condiţii de hipoxie, caracteristice microcirculaţiei capilare, afinitatea de legare a oxigenului la HbS se reduce la jumătate. Concomitent se produce o modificare a solubilităţii hemoglobinei, ceea ce induce precipitarea proteinei, sub forma unor bastonaşe.

Prezenţa precipitatelor de HbS determină o modificare a formei hematiilor, care capătă formă de seceră, în loc de disc biconcav. Modificarea formei hematiilor determină două efecte: lezarea membranei eritrocitare la trecerea prin capilare şi blocarea microcirculaţiei prin microtrombusuri. Lezarea membranei favorizează distrugerea precoce a hematiilor cu apariţia anemiei hemolitice, în timp ce microtrombozele sunt răspunzătoare de durerile localizate în diverse organe (figura IV.5.).

În 1975, a fost identificată, localizată şi secvenţializată gena β-globinei. Analiza genei la persoanele cu sicklemie a arătat că mutaţia care determină afecţiunea este de tip punctiform şi constă în substituţia adeninei cu timina la nivelul codonului 6 a lanţului β a globinei. Astfel, codonul 6 GAG devine GTG, ceea ce determină la nivelul peptidei înlocuirea acidului glutamic cu valina.

Astfel a devenit clar că o modificare genică minoră (substituţia unei nucleotide) poate cauza modificări fenotipice majore, cauzând boli grave.

Descifrarea defectului molecular în drepanocitoză permite câteva **concluzii** referitoare la concepţia actuală despre funcţia genei. Astfel, genele care codifică proteine conţin sub forma secvenţei de nucleotide informaţia genetică pentru asamblarea specifică a aminoacizilor din proteină. Mutaţiile genice produc schimbarea secvenţei unui(unor)

codon(i) ceea ce are ca efect sinteza unei proteine anormale, care poate genera o boală moleculară.

În acțiunea genei pot fi identificate trei categorii de efecte (figura IV.5.)

- efectul primar la nivel molecular – în sicklemie substituția acidului glutamic cu valina în poziția 6 a β-globinei, cu apariția HbS;
- efectul secundar la nivel celular – în sicklemie modificarea formei hematiei (din disc biconcav în seceră)
- efectul terțiar la nivel de organ sau organism (semne şi simptome) – în sicklemie: anemie hemolitică cronică, dureri de tip infarctic, infecții recurente[43] (figura IV.5.).

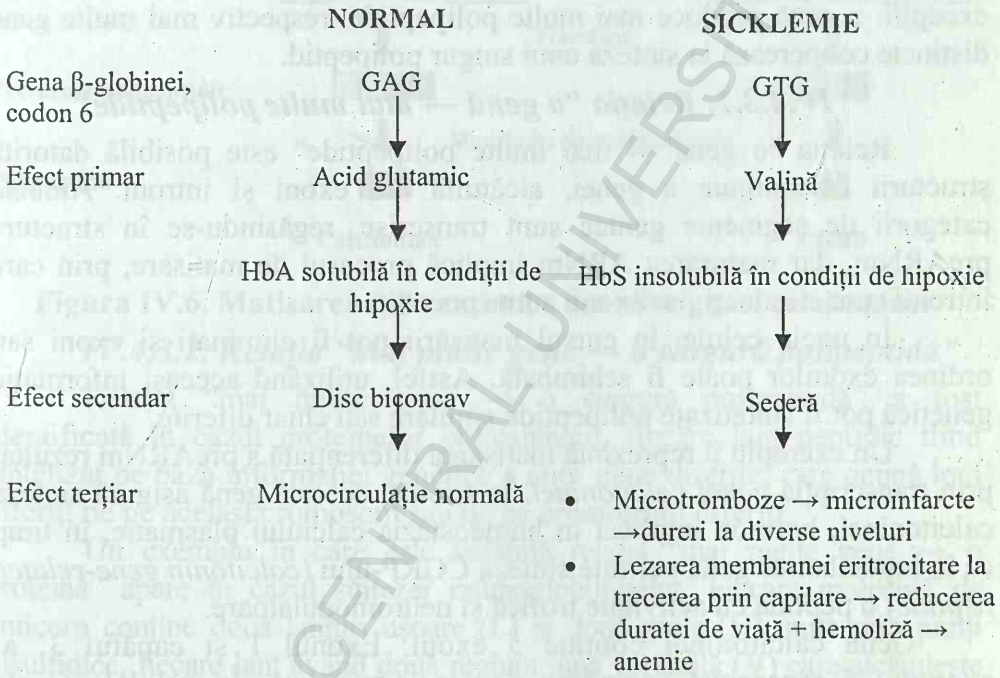


Figura IV.5. Mecanismul patogenic în sicklemie

La nivel molecular se manifestă ambele gene, noțiunile de dominanță/ recesivitate fiind valabile doar la nivel fenotipic. De exemplu, în sicklemie heterozigoții (**Na**) produc atât HbA, cât şi HbS.

Expresia ambelor gene alele la heterozigoți permite identificarea lor, prin studiul efectelor primar sau secundar. Depistarea indivizilor sănătoşi, purtători de genă mutantă (**Na**) are importanță practică, deoarece la cuplurile heterozigote se poate aplica o metodă de diagnostic prenatal

[43] În majoritatea bolilor genetice sunt cunoscute efectele terțiare şi cele secundare, dar cele primare rămân încă necunoscute. Bolile în care se cunosc toate cele trei categorii de efecte sunt denumite **boli moleculare**

BUCM CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

pentru prevenirea naşterii unor copii homozigoţi bolnavi (riscul unui cuplu de heterozigoţi de a avea un copil bolnav fiind de 25%).

Identificarea modificării nucleotidice în gena mutantă permite, prin analiza ADN-ului, diagnosticul genotipic precoce al bolii, fie prenatal fie postnatal, într-un stadiu asimptomatic.

IV.4.3. COMPLEXITATEA RELAŢIEI O GENĂ →O PROTEINĂ

Analizele moleculare genice au evidenţiat o serie de situaţii în care relaţia "o genă → o polipeptidă" nu este valabilă. Există două categorii de excepţii: o genă produce mai multe polipeptide, respectiv mai multe gene distincte cooperează la sinteza unui singur polipeptid.

IV.4.3.1. Relaţia "o genă → mai multe polipeptide"

Relaţia "o genă → mai multe polipeptide" este posibilă datorită structurii discontinue a genei, alcătuită din exoni şi introni. Ambele categorii de segmente genice sunt transcrise, regăsindu-se în structura preARNm, dar maturarea ARNm implică procesul de matisare, prin care intronii sunt eliminaţi, iar exonii sunt conectaţi.

În unele celule, în cursul matisării pot fi eliminaţi şi exoni sau ordinea exonilor poate fi schimbată. Astfel, utilizând aceeaşi informaţie genetică pot fi sintetizate polipeptide similare sau chiar diferite.

Un exemplu îl reprezintă matisarea diferenţiată a preARNm rezultat prin transcripţia *genei calcitoninei*. În tiroidă, această genă asigură sinteza calcitoninei, hormon implicat în homeostazia calciului plasmatic, în timp ce în hipotalamus gena permite sinteza CGRP-ului (*calcitonin gene-related peptide*) o peptidă cu activitate trofică şi neuromodulatoare.

Gena calcitoninei conţine 5 exoni. Exonul 1 şi capătul 3' al exonului 5 reprezintă segmente genice netranslate. În celulele C ale tiroidei prin transcrierea genei calcitoninei rezultă un ARNm matur, care conţine informaţia genetică a exonilor 2, 3 şi 4. În neuronii hipotalamici transcrierea aceleaiaşi gene determină formarea unui ARNm care conţine exonii 2, 3 şi capătul 5' al exonului 5. Ulterior, în ambele ţesuturi, prin translaţie, rezultă un precursor polipeptidic, care se maturează prin eliminarea unor segmente peptidice. Atât în tiroidă, cât şi în neuroni este eliminată secvenţa de aminoacizi corespunzătoare exonilor 2 şi 3. Astfel, calcitonina produsă de tiroidă corespunde doar secvenţei nucleotidice a exonului 4, în timp ce CGRP-ul conţine doar informaţia gnetică corespunzătoare capătului 5' a exonului 5 (figura IV.6.). Fenomenul de matisare alternativă a avut un rol important în

evoluție, deoarece prin rearanjarea exonilor unei gene pot rezulta proteine cu funcții noi.

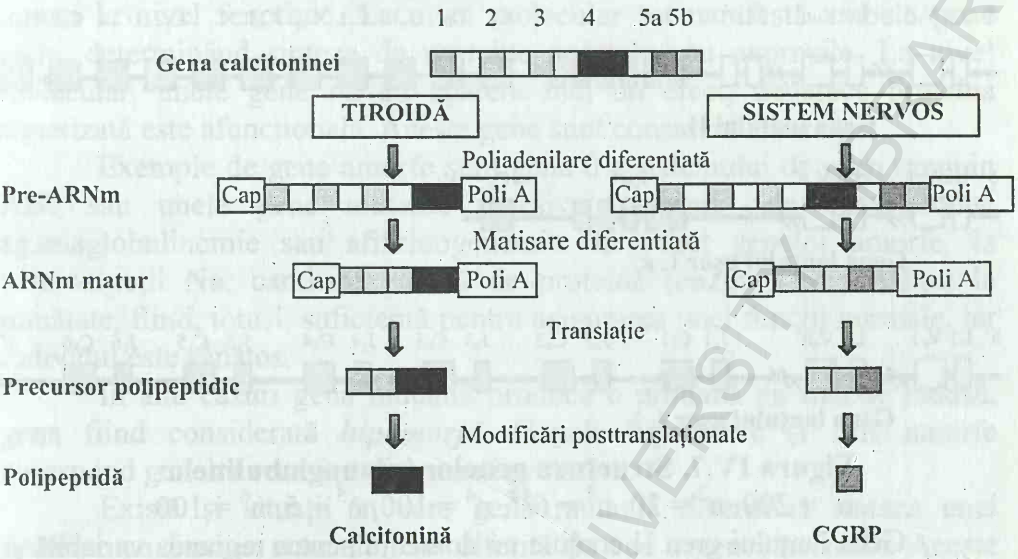


Figura IV.6. Matisarea diferențiată a exonilor genei calcitoninei

IV.4.3.2. Relația "mai multe gene → o singură polipeptidă"

Relația "mai multe gene → o singură polipeptidă" a fost identificată în cazul proteinelor policatenare, fiecare lanț peptidic fiind sintetizat pe baza informației genetice a unor gene diferite, care ocupă loci diferiți de pe același cromosom sau de pe cromosomi diferiți.

Un exemplu în care este valabilă relația "mai multe gene → o proteină" apare în cazul sintezei imunoglobulinelor. Fiecare moleculă de anticorp conține două lanțuri ușoare (L) și două grele (H) unite prin punți disulfidice, fiecare lanț având două regiuni: una variabilă (V) care alcătuiește situsul de recunoaștere si fixare al antigenului și o alta constantă (C).

În cazul sintezei imunoglobulinelor intervin două mecanisme de excludere care explică parțial diversitatea anticorpilor:

- ***alelică*** – în limfocitele B din cele două alele este activă doar una, fie cea de origine maternă fie cea de origine paternă.
- ***izotipică*** – fiecare imunoglobulină conține una din cele cinci forme de lanț H: α, γ, ε, δ sau μ, corespunzătoare imunoglobulinelor A, G, E, D și M, respectiv una din cele două tipuri de lanț L: κ sau λ;

Sinteza anticorpilor este asigurată de 3 gene, active numai în limfocitele B sau în plasmocite (celule derivate din limfocitele B în urma migrării acestora în țesuturi). Gena pentru lanțul **H** este localizată 14q32,

cea pentru lanţul uşor κ este localizată 2p13, iar cea pentru lanţul uşor λ este localizată 22q11 (figura IV.7.).

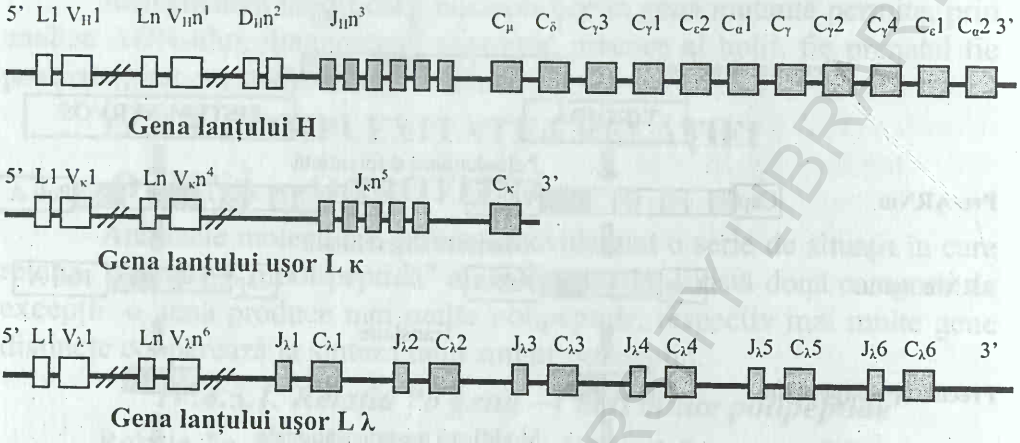


Figura IV.7. Structura genelor imunoglobulinelor
$n^1 = 200$, $n^2 = 20$, $n^3 = 6$[44], $n^4 = 100$, $n^5 = 5$, $n^6 = 100$

Gena lanţului greu H conţine un domeniu pentru regiunea variabilă şi unul care codifică regiunea constantă a lanţului greu. La nivelul domeniului variabil au fost identificate 3 subdomenii: V (variabil) care cuprinde 200 de gene, D (de diversificare) care conţine 20 de gene şi J (joncţional) care conţine 6 gene. Regiunea C a genei lanţului H conţine 11 gene.

Gena lanţului uşor L_κ conţine în domeniul variabil două subdomenii: V, care conţine 100 de gene şi J, care conţine 5 gene, în timp ce domeniul C conţine o singură genă. Gena lanţului uşor L_λ conţine în domeniul variabil (V) 100 de gene, iar în domeniul C există 6 gene J şi C, dispuse alternativ.

În cursul sintezei imunoglobulinelor, la nivelul limfocitelor B, se produc rearanjamente genice sub acţiunea ***recombinazelor***. Astfel, în limfocite este activată doar una din cele două gene ale lanţului uşor L şi gena lanţului H. În cursul transcripţiei, este aleasă câte o genă din fiecare domeniu sau subdomeniu al fiecăreia din cele două gene activate, rezultând un ARNm specific.

Ţinând cont de numărul mare de gene diferite şi de asocierea obligatorie a diferitelor lanţuri uşoare şi grele, se pot forma aproximativ 10^{11} anticorpi diferiţi, ceea ce permite sinteza unui anticorp caracteristic pentru fiecare antigen cu care organismul vine în contact.

IV.4.4. INTERACŢIUNILE GENICE ÎN CONCEPŢIA ACTUALĂ

Interacţiunile genelor pot fi evidenţiate uşor la nivel molecular.

[44] Regiunea joncţională a genei lanţului H conţine 6 gene şi 3 pseudogene

IV.4.4.1. Interacțiuni alelice

Relațiile de dominanță/ recesivitate dintre genele alele sunt valabile numai la nivel fenotipic. La nivel molecular se manifestă ambele gene alele, determinând sinteza de proteine normale sau anormale. La nivel molecular, unele gene nu au aparent nici un efect, deoarece proteina sintetizată este afuncțională. Aceste gene sunt considerate ***amorfe.***

Exemple de gene amorfe sunt gena 0 a sistemului de grup sanguin AB0 sau unele gene mutante recesive, precum cele care produc agamaglobulinemie sau afibrinogenemie. În cazul genelor amorfe, la heterozigoții **Na**, cantitatea totală de proteină (enzimă) este redusă la jumătate, fiind, totuși, suficientă pentru asigurarea unei funcții normale, iar individul este sănătos.

În alte cazuri gena mutantă produce o proteină cu funcție redusă, gena fiind considerată ***hipomorfă***. Genele hipomorfe și cele amorfe corespund genelor recesive din genetica clasică.

Există și situații în care gena mutantă determină sinteza unei proteine cu funcție normală, dar diferită de cea a genei normale. Aceste gene sunt denumite ***izomorfe*** și corespund genelor dominante sau codominante din genetica clasică.

IV.4.4.2. Interacțiuni nealelice

Fenomenul de ***epistazie*** este ușor de demonstrat în cazul geneticii moleculare, fiind consecința acțiunea coroborate a mai multor gene care intervin succesiv în sinteza unui compus final. Un exemplu este cel al sintezei antigenelor de grup sanguin AB0.

Antigenele sistemului de grup sanguin AB0 (A, B și H) sunt macromolecule complexe, prezente la toți indivizii pe suprafața hematiilor și în secreții doar la persoanele secretoare.

Antigenele AB0 eritrocitare sunt glicosfingolipide complexe, care au o parte centrală fixată cu un capăt în membrana eritrocitului. Pe miezul membranar se atașează extramembranar, mai multe catene glucidice.

Specificitatea antigenică este determinată de glucida terminală. Antigenele fixate pe membrana hematiilor au caracter liposolubil. La persoanele secretoare antigenele AB0 suferă o modificare a solubilității, devenind hidrosolubile și trec astfel în secreții.

Sinteza antigenelor AB0 începe de la o substanță precursor (S) lipsită de proprietăți antigenice.

Într-o primă fază acționează fucoziltransferaza, codificată de gena H, care asigură atașarea la molecula precursorului S a unui rest de fucoză, rezultând antigenul H. Gena mutantă h determină sinteza unei

fucoziltransferaze lipsită de activitate enzimatică. Astfel, indivizii homozigoți **hh** nu prezintă pe hematii nici un fel de antigene, deşi genele A, B sau 0 sunt normale, dar enzimele codificate de acestea nu au asupra cui acționa, deoarece lipseşte antigenul H. Persoanele cu genotip **hh** prezintă aşa-zisul ***fenotip Bombay***, caracterizat prin absența de pe hematii a oricărui antigen şi prezența în ser a tuturor anticorpilor AB0: α, β şi anti-H.

Asupra antigenului H acționează enzimele produse de genele A, B şi 0. Gena A codifică o N-acetilgalactozamintransferază, care asigură ataşarea la antigenul H a unui rest de N-acetilgalactozamină, rezultând astfel antigenul A. Gena B codifică o D-galactozotransferază, care asigură ataşarea la antigenul H a unui rest de D-galactoză, rezultând astfel antigenul B. Gena 0 determină sinteza unei enzime afuncționale, astfel încât la homozigoții **00**, antigenul H rămâne neschimbat (figura IV.8.).

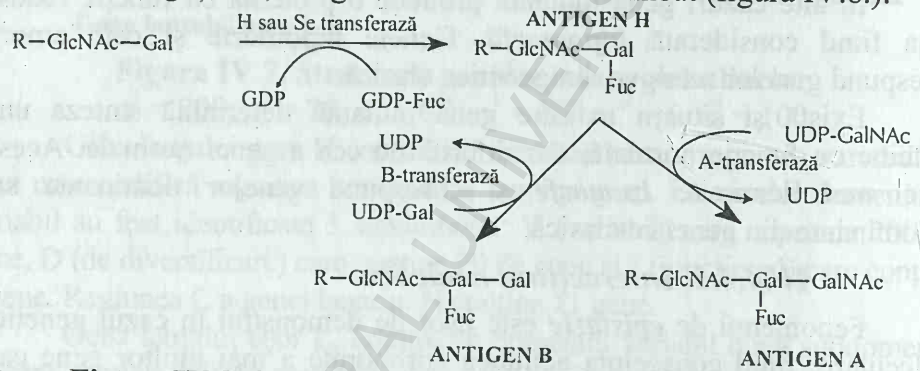


Figura IV.8. Sinteza antigenelor grupului sanguin AB0

GlcNAc – N-acetilglucozamină; GalNAc- Nacetilgalactozamină; Fuc – Fucoză; Gal- Galactoză

Genele AB0 sunt localizate pe un locus de pe cromosomul 9. Între alelele A şi B există o diferență minimă de numai patru nucleotide. Alela 0 a apărut printr-o deleție a unei singure nucleotide, mutație care determină modificarea "cadrului de lectură" a genei[45]. Prin această mutație rezultă o proteină diferită, lipsită de activitate transferazică.

La persoanele secretoare, în afara genelor H şi AB0, acționează şi gena dominantă Se, care determină modificarea solubilității antigenelor AB0 de pe hematii. În prezența genei recesive se (genotip sese) solubilitatea antigenelor A, B şi H rămâne nemodificată, iar trecerea acestor antigene în secrețiile apoase este imposibilă.

[45] Vezi capitolul Mutații genice

V. EXPRESIA GENICĂ

Expresia informației genetice se realizează prin două procese corelate funcțional: ***transcripția*** și ***translația***, datorită existenței:

- unui sistem de transfer al informației genetice din nucleul celulei (unde informația este stocată în ADN) în citoplasmă, la nivelul ribosomilor (unde sunt sintetizate proteinele);
- unui cod genetic, care reprezintă un sistem de corespondență între secvența nucleotidelor din ADN și aminoacizii care alcătuiesc proteinele.

În cursul expresiei genice se realizează un transfer intracelular de informație, care alături de replicare constituie una din cele două componente fundamentale ale **dogmei centrale a biologiei moleculare** (figura V.1.).

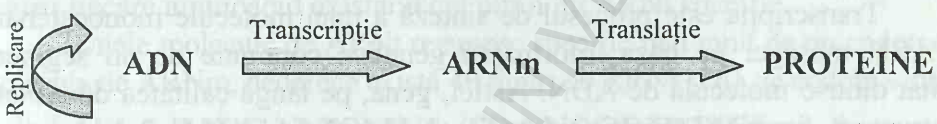


Figura V.1. Dogma centrală a biologiei moleculare

În celulele umane pot fi exista două categorii de transfer de informație:

- **transferul general** se manifestă în toate celulele, fiind reprezentat de:
  - transferul informației de la ADN la ADN în timpul replicării[46];
  - transferul de la ADN la ARNm în timpul transcripției
  - transferul de la ARNm la proteine, care este caracteristic translației;
- **transferul special** are loc numai în anumite celule, în condiții speciale, fiind reprezentat de:
  - transferul ARN → ARN din cursul replicării unor virusuri, care au stocată informația genetică sub formă de ARN;
  - transferul de la ARN la ADN (*transcripția inversă*) care se produce în celulele infectate cu retrovirusuri.

Transferul informației genetice de la ADN la proteine implică mai multe etape:

- transcripția – copierea secvenței nucleotidice a genei sub forma unei molecule complementare de ARN mesager precursor (pre ARN m);
- formarea ARNm matur;

[46] Vezi capitolul Transmiterea informației genetice

- transportul ARNm din nucleu la ribosomi;
- translaţia – decodificarea informaţiei genetice din molecula de ARNm cu sinteza unei proteine cu o anumită secvenţă de aminoacizi;
- procesarea post-translaţională şi asamblarea proteinei într-o structură spaţială caracteristică, necesară pentru desfăşurarea normală a activităţii biologice.

Procesul de transfer informaţional este controlat de mai multe gene, astfel încât acesta să se realizeze numai în anumite celule, în anumite etape ale ciclului celular şi să prezinte un ritm optim.

În cursul fiecărei etape pot apare erori, care perturbă sinteza proteică, generând boli genetice. Identificarea mecanismului normal şi a erorilor posibile, permite descifrarea patogeniei unor boli şi ameliorarea posibilităţilor de diagnostic şi tratament.

V.1. TRANSCRIPŢIA

Transcripţia este procesul de sinteză a unei molecule monocatenare de ARN mesager pe baza informaţiei genetice conţinute de un segment limitat dintr-o moleculă de ADN. Astfel, gena, pe lângă calitatea de unitate de structură, funcţie şi mutaţie, poate fi considerată şi unitate de transcripţie.

V.1.1. TIPURI DE ARN

Expresia informaţiei genetice implică intervenţia mai multor tipuri de **acizi ribonucleici** - ARN. ARN-ul are o structură chimică asemănătoare cu ADN-ul, fiind o polinucleotidă, care prezintă trei diferenţe esenţiale:

- componenta glucidică –pentoza - este *riboza*, în loc de deoxiriboză;
- în ARN, timina din ADN este înlocuită de *uracil*, astfel cele patru baze azotate ale unei molecule de ARN sunt: adenina, guanina, citozina şi uracilul;
- moleculele de ARN sunt monocatenare.

Există trei tipuri importante de ARN: ARN mesager (ARNm) ARN ribosomal (ARNr) şi ARN de transfer (ARNt) toate fiind implicate în sinteza peptidelor.

ARN-ul mesager - ARNm - este produsul de transcripţie al genelor structurale care codifică proteine. Sinteza ARNm se face în prezenţa ARN-polimerazei de clasă II. Rolul ARNm este de a transporta informaţia genetică de la nucleu în citoplasmă, la ribosomi, unde serveşte ca matriţă pentru sinteza de polipeptide specifice.

ARN-ul ribosomal – ARNr – participă la formarea ribosomilor activi, necesari pentru decodificarea informaţiei genetice a ARNm. Pe baza diferenţelor de sedimentare au fost identificate 4 tipuri de ARNr: 28 S, 18

S, 5,8 S şi 5 S. Primele trei tipuri de ARNr sunt codificate de copii multiple ale aceleaşi gene, localizate pe braţele scurte ale cromosomilor acrocentrici şi se formează prin clivarea preARNr în urma acţiunii ARN-polimerazei de clasă I. ARNr de 5S este codificat de o altă genă, localizată pe braţul lung al cromosomului1, şi rezultă în urma acţiunii catalitice a ARN-polimerazei de clasă III.

ARN-ul de transfer - ARNt – este constituit din molecule mici (conţinând doar aproximativ 80 nucleotide) cu structură similară, care adoptă o configuraţie de "*trefla*".

ARNt acţionează ca "*translator*" în cursul sintezei peptidelor., deoarece posedă două situsuri funcţionale:

- unul în care fixează specific un aminoacid din citoplasmă;
- altul care permite ataşarea specifică la ARNm, la nivelul codonului corespunzător, a aminoacidului respectiv.

În citoplasmă au fost identificate 40 molecule diferite de ARNt, pentru fiecare aminoacid existând cel puţin un ARNt specific.

Unele molecule de ARNt recunosc specific mai mult de un codon din molecula de ARNm, deoarece există 40 tipuri de ARNt şi 61 de codoni sens[47].

V.1.2. MECANISMUL TRANSCRIPŢIEI

Transcripţia implică copierea unui segment limitat din molecula de ADN. Deoarece cele două catene de ADN sunt complementare, dacă transcripţia s-ar face concomitent pe ambele catene ar rezulta molecule de ARNm şi, implict, proteine diferite. În aceste condiţii, transcripţia se face pe o singură catenă a moleculei de ADN. Totuşi, catena transcrisă nu este aceeaşi la toate genele de pe un cromosom. În plus, la unele gene pot fi transcrise alternativ ambele catene, rezultând proteine diferite.

Datorită particularităţii de polimerizare a ARN-polimerazei II doar în sensul 5' → 3', catena transcrisă are întotdeauna o polaritate 3' → 5'. Această catenă, serveşte ca matriţă pentru aranjarea complementară a ribonucleotidelor în molecula de ARNm (T→A, G→C, C→G, A→U).

Noua moleculă de ARNm are aceeaşi polaritate şi secvenţă nucleotidică ca şi catena de ADN netranscrisă (exceptând înlocuirea T cu U). De aceea, catena *netranscrisă* este considerată catenă ***sens***, iar catena *transcrisă* este considerată catenă ***antisens***.

Formarea ARNm prin transcripţia genelor care codifică proteine se desfăşoară în două etape: formarea preARNm şi maturarea ARNm (figura V.2.).

[47] vezi Codul genetic

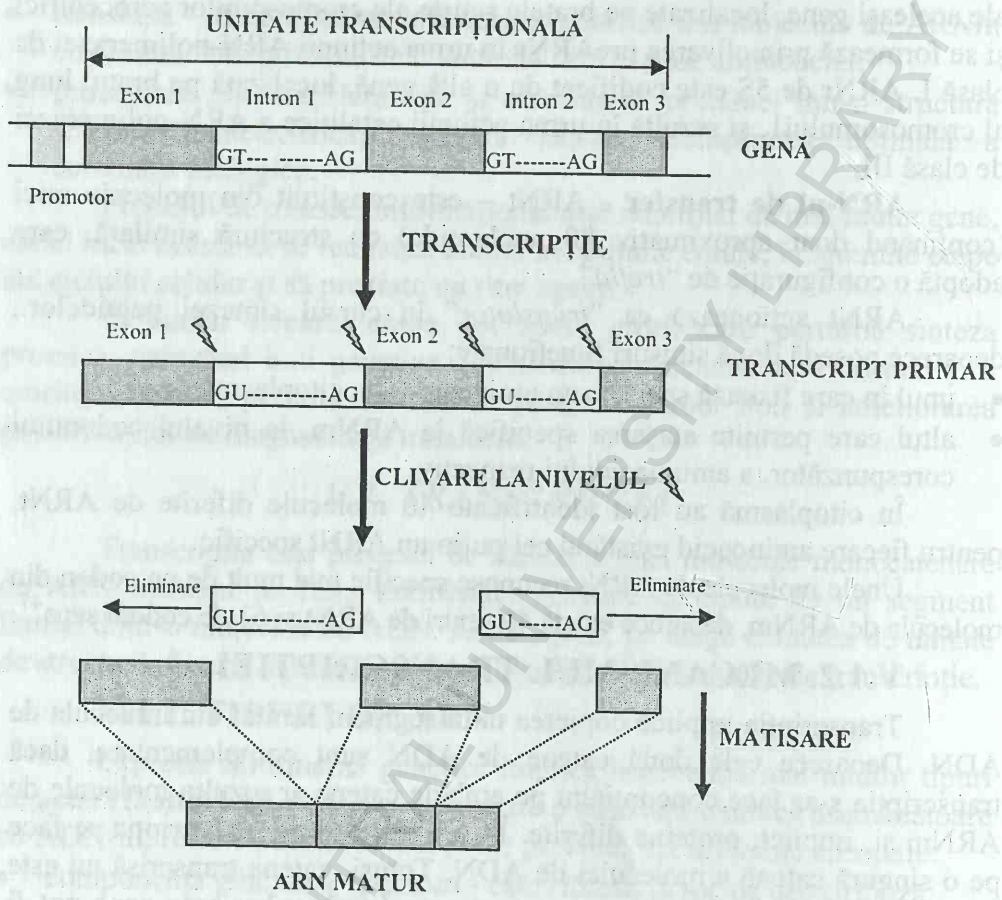


Figura V.2. Etapele transcripției

V.1.2.1. Formarea preARNm

Inițierea transcripției începe de la nivelul regiunii promotor a genei, prin fixarea factorilor proteici de transcripție. Factorii proteici de transcripție se pot fixa pe diverse segmente genice sau se pot cupla cu alți factori de transcripție.

În cazul genelor cu exprimare specific tisulară, principalul factor proteic de transcripție este **TBP** (*TATA-binding protein*) denumit astfel deoarece se fixează în regiunea TATA a promotorului. După fixarea TBP, aceasta atrage alți factori proteici de transcripție, rezultând un complex ADN-proteine, care permite fixarea ARN-polimerazei II la aproximativ 25 pb în aval de situsul TATA (figura V.3.). În cazul genelor ubicuitare, exprimate în toate țesuturile, intervin alți factori proteici de transcripție, deoarece aceste gene sunt lipsite de secvența **TATA**, care este înlocuită cu

secvența **GGGCGGG**.

După fixarea ARN-polimerazei II începe transcripția. Debutul acesteia este facilitat de acțiunea unei *ADN-helicaze*, care scindează legăturile de hidrogen dintre cele două catene de ADN, ceea ce face posibilă acțiunea ARN-polimerazei.

Acțiunea ARN-polimerazei începe la nivelul situsului de inițiere al transcripției, iar rolul ei este de a asigura creşterea catenei de preARNm în direcția 5' → 3', prin formarea de legături esterice între riboza unei ribonucleotide şi acidul fosforic al următoarei ribonucleotide. În cursul transcripției sunt copiați, atât exonii, cât şi intronii, rezultând ***transcriptul primar*** sau ***preARNm***.

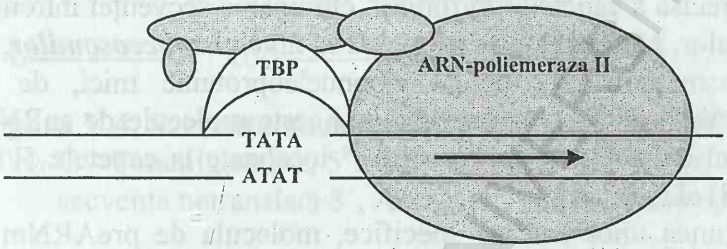


Figura V.3. Complexul ADN – ARN-polimeraza II – factori de transcripție

După ce ARN polimeraza II trece de situsul de inițiere a transcripției, acesta devine liber, iar o nouă moleculă de ARN-polimerază se poate fixa la acest nivel.

Prin fixarea mai multor molecule de ARN-polimerază II, pe baza informației unei singure gene se pot sintetiza mai multe molecule identice de preARNm.

Semnalul de terminare al transcripției este reprezentat de o secvență hexanucleotidică AATAAA, situată în aval de ultimul exon al genei. Transcripția se opreşte după citirea a încă 18-20 de nucleotide, într-o regiune bogată în perechi de baze GC, numită şi situs de poliadenilare.

V.1.2.2. Maturarea ARNm

La eucariote, transcriptul primar nu reprezintă forma biologică activă a ARNm. Pentru a deveni activ, preARNm suferă o serie de modificări, care constituie maturarea ARNm. Prin maturare ARNm este stabilizat, ceea ce permite transportul moleculei din nucleu în citoplasmă şi utilizarea acesteia ca matriță pentru sinteza peptidelor.

Într-o primă etapă, în regiunea 5' a moleculei de preARNm este adăugată o moleculă de 7-metilguanină, prin formarea de legături esterice

între riboza 7-metilguaninei şi riboza primei nucleotide a preARNm. 7-metilguanina este rezistentă la acţiunea ribonucleazelor din citoplasmă, ceea ce asigură stabilizarea ARNm. **În a doua etapă a maturării**, intervine o ribonuclează care recunoaşte situsul **AAUAAA** localizat în regiunea 3' a transcriptului primar. În prezenţa ribonucleazei, molecula de preARNm este secţionată la 11-30 de nucleotide în aval de situsul **AAUAAA**.

Ulterior, la nivelul situsului **AAUAAA** se fixează poliA-polimeraza, o enzimă care asigură ataşarea mai multor nucleotide cu adenină (50-250) care formează o "*coadă poliadenilică*". Coada poliadenilică intervine în transportul ARNm din nucleu în citoplasmă.

În ultima etapă a maturării se produce ***matisarea***[48]. Matisarea constă în secţionarea precisă a capetelor intronilor, eliminarea secvenţei intronice şi racordarea exonilor. Matisarea este asigurată la nivelul ***spliceosomilor***, mici organite citoplasmatice, care conţin ribonucleoproteine mici, de tipul **snRNA** (*Small Nuclear RiboNucleic Acid)*. Aceste molecule de snRNA se fixează la nivelul balizelor de "*semnalizare*" localizate la capetele 5' (GU) respectiv 3' (AG) ale intronilor.

Sub acţiunea unor enzime specifice, molecula de preARNm este tăiată la nivelul balizelor intronice, intronii sunt eliminaţi, iar exonii sunt racordaţi unul după altul. Transportul ARNm matur din nucleu în citoplasmă este un proces consumator de energie. Energia necesară acestui proces este furnizată de hidroliza ATP.

Pentru a putea fi transportat ARNm trebuie, în prealabil, stabilizat. Stabilizarea este necesară deoarece ARNm este o moleculă monocatenară, care nu prezintă legături intracatenare, cum este cazul celorlalte tipuri de ARN.

Stabilitatea moleculei de ARNm depinde de cantitatea de proteină pe care o sintetizează. Astfel, dacă în celulă este nevoie de o cantitate mare de proteină, atunci molecula de ARNm corespunzătoare este mult mai stabilă decât în condiţiile în care cantitatea de proteină sintetizată este redusă.

V.2. TRANSLAŢIA

Translaţia este procesul de decodificare a informaţiei genetice conţinută de o moleculă de ARNm matur. Translaţia se realizează în citoplasmă la nivelul ribosomilor, fiind necesară îndeplinirea a două condiţii:

- celula trebuie să aibă un aparat de translaţie;

[48]Matisare – unirea a două frânghii (cabluri) prin împletirea firelor care le compun; engl. – *splicing*, fr.- *epissage*

- între secvența nucleotidelor din ARNm matur și secvența aminoacizilor din proteine trebuie să existe un sistem de corespondență, reprezentat de codul genetic.

V.2.1. APARATUL DE TRANSLAȚIE

Aparatul de translație este constituit din totalitatea componentelor celulare care intervin în sinteza proteinelor. Acestea sunt reprezentate de: ARNm, ribosomi, ARNt, proteine și surse energetice.

ARNm matur este purtătorul informației genetice codificate. El este alcătuit din două categorii de secvențe: *translate* și *netranslate* (figura V.4.)

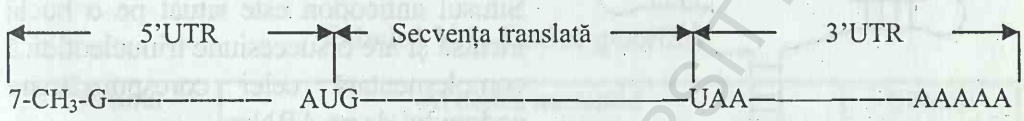


Figura V.4. Secvența nucleotidică a moleculei de ARNm matur
7-CH_3-G - 7-metilguanina, 5'UTR - secvența netranslată 5'; 3'UTR - secvența netranslată 3', AAAAA - coada poliadenilică.

Secvența translată se găsește la mijlocul moleculei și este continuă. Ea rezultă prin asamblarea exonilor în cursul matisării. Secvența translată începe cu codonul inițiator **AUG**, care este același în toate moleculele de ARNm și codifică aminoacidul metionină[49]. La capătul 3' al secvenței translate se găsește unul din cei trei codoni stop: **UAG, UGA** sau **UAA**, care constituie semnalul pentru încetarea citirii informației genetice în cursul translației.

Secvențele netranslate se găsesc periferic la cepetele 3' și 5'. La capătul 5' al moleculei de ARNm matur se găsește 7-metilguanina, urmată de secvența netranslată 5' (5'UTR – *5' untranslated region*).

La capătul 3' al moleculei de ARNm matur, după codonul stop urmează secvența netranslată 3' (3'UTR – 3*' untranslated region*) și coada poliadenilică.

Ribosomii sunt organite citoplasmatice constituite din complexe macromoleculare care se asamblează într-o structură specifică în momentul translației. În afara perioadei de sinteză a unei proteine există două subunități ribosomice: una mare de **60 S** și una mică de **40 S**.

Prin asamblarea celor două subunități și asocierea cu ARNm și complexe ARNt-aminoacizi rezultă ribosomul activ de 80S.

Moleculele de **ARNt** sunt reprezentate de circa 40 de tipuri,

[49] Deși toate moleculele de ARNm încep cu AUG, nu toate proteinele au metionina ca prim aminoacid datorită procesării posttranslaționale a proteinelor

formate din circa 80 de nucleotide, care au două funcţii esenţiale: de a fixa specific un anumit aminoacid şi de a recunoaşte codonul corespunzător aminoacidului respectiv în succesiunea nucleotidelor ARNm (figura V.5.).

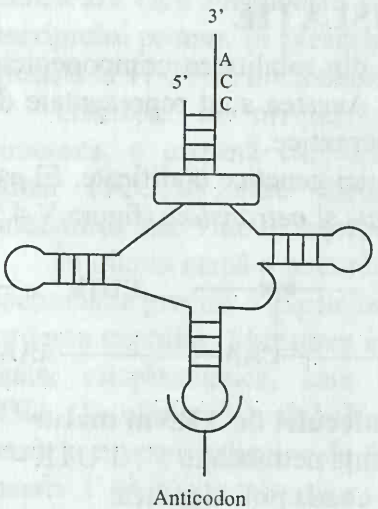


Figura V.5. Configuraţia moleculei de ARNt

Fiecare moleculă de ARNt are două situsuri funcţionale: ***aminoacil*** şi ***anticodon***, localizate la capetele a două bucle, dispuse opus. Bucla pe care este situat situsul aminoacil este deschisă, iar la capătul 3' al buclei există întotdeauna trinucleotida **ACC**. Situsul anticodon este situat pe o buclă închisă şi are o succesiune trinucleotidică complementară celei corespunzătoare codonului de pe ARNm.

Pentru fiecare triplet codant există o moleculă de ARNt purtătoare de aminoacid. În schimb, codonii stop: **UAA**, **UAG** şi **UGA** nu au nici un ARNt corespunzător, astfel fiind semnalizată încheierea translaţiei.

Proteinele aparatului de translaţie sunt de două tipuri: reglatoare şi enzimatice. Proteinele reglatoare sunt de trei tipuri: *factori de iniţiere specifici* (IF – *initiation factor*)[50], *factori de elongaţie* (EF – *elongation factor*) şi *factori de eliberare* (RF – *release factor*).

Enzimele care fac parte din aparatul de translaţie sunt reprezentate de: *aminoacil-ARNt-sintetaze*, *peptidil transferaza* şi *translocaza*.

Aminoacil-ARNt-sintetazele asigură formarea complexului aminoacid-ARNt. Aceste enzime au afinitate specifică doar pentru un anumit aminoacid şi nu permit ataşarea altui aminoacid la ARNt.

Sursele de energie sunt reprezentate de acidul adenozin-trifosforic (ATP) şi acidul guanozin-trifosforic (GTP) care prin hidroliză la AMP şi GMP furnizează energia necesară diverselor etape ale translaţiei.

V.2.2. CODUL GENETIC

Codul genetic este un sistem de corespondenţă între o anumită succesiune de nucleotide din structura unei molecule de ARNm şi un anumit aminoacid din structura peptidei sintetizată pe baza informaţiei genetice a moleculei de ARNm.

[50] Există zece astfel de factori, cel mai important fiind denumit IF2

Codul genetic are o serie de particularităţi, inserate în continuare.

Codul genetic este ***triplet*** – fiecare unitate de cod din structura ARNm este constituită din trei nucleotide învecinate. Existenţa unui cod genetic triplet este dictată de necesitatea existenţei a cel puţin unui codon diferit pentru fiecare din cei 20 de aminoacizi din proteine.Ţinând cont că în molecula de ARNm există patru baze azotate – adenină (A) guanină (G) citozină (C) şi uracil (U) – care se pot asocia liber, rezultă obligativitatea asocierii a câte 3 nucleotide, pentru a fi posibilă formarea a cel puţin unui codon pentru fiecare aminoacid[51]. Astfel, prin asocierea de tip triplet se formează $4^3 = 64$ de codoni diferiţi (tabelul V.1.).

Tabelul V.1. Codul genetic

Primul nucleotid	Al doilea nucleotid				Ultimul nucleotid
	U	C	A	G	
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	C
U	Leu	Ser	STOP	STOP	A
U	Leu	Ser	STOP	Trp	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
C	Leu	Pro	His	Arg	C
C	Leu	Pro	Gln	Arg	A
C	Leu	Pro	Gln	Arg	G
A	Ile	Thr	Asn	Ser	U
A	Ile	Thr	Asn	Ser	C
A	Ile	Thr	Lys	Arg	A
A	Met	Thr	Lys	Arg	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
G	Val	Ala	Asp	Gly	C
G	Val	Ala	Glu	Gly	A
G	Val	Ala	Glu	Gly	G
	Aminoacid codificat				

Baze azotate din structura ARN-ului mesager: A – adenină; C – Citozină; U – Uracil; G – Guanină; **Aminoacizi din structura proteinelor**: Ala – Alanină; Arg – Arginină; Asp – Acid aspartic; Asn – Asparagină; Cys – Cisteină; Gln – Glicină; Glu – Glutamină; Gly – Acid glutamic; His – Histidină; Ile – Izoleucină; Leu – Leucină; Lys – Lizină; Met – Metionină; Phe – Fenilalanină; Pro – Prolină; Ser – Serină; Thr – Treonină; Trp – Triptofan; Tyr – Tirozină; Val – Valină

Codul genetic este ***fără echivoc***, deoarece un codon codifică un singur aminoacid.

[51] Un cod genetic dublet ar genera $4^2 = 16$ codoni, un număr insuficient, iar unul cvartet ar asigura $4^4 = 256$ de codoni, ceea ce ar reprezenta o risipă de material genetic.

Codul genetic este ***degenerat*** – ţinând cont de existenţa a 64 de codoni, care trebuie să codifice cei 20 de aminoacizi din proteine este evident, că unii aminoacizi sunt codificaţi de mai mulţi codoni, care diferă prin ultima bază azotată. De exemplu, leucina este codificată de patru codoni: **CUU, CUC, CUA** şi **CUG**.

Codul genetic are o serie de codoni ***speciali***. Aceştia sunt: **AUG**, care codifică metionina şi reprezintă ***codonul iniţiator***, respectiv codonii **UAA, UAG** şi **UGA**, care reprezintă semnalele pentru întreruperea citirii informaţiei genetice, fiind consideraţi ***codoni stop***.

Codul genetic este ***lipsit de "semne de punctuaţie"*** – codonii învecinaţi nu sunt separaţi de nucleotide sau codoni lipsiţi de funcţie codantă.

Codul genetic este **nesuperpozabil**, deoarece 2 codoni învecinaţi nu au nici o nucleotidă în comun.

Codul genetic este ***universal*** – la toate organismele un codon semnifică acelaşi aminoacid[52]

V.2.3. ETAPELE TRANSLAŢIEI

Translaţia decurge în trei etape: *iniţiere, elongaţie* şi *încheiere*.

V.2.3.1. Iniţierea translaţiei

Translaţia începe prin activarea complexelor aminoacid-ARNt. Acest proces se desfăşoară în prezenţa ***aminoacil-ARNt-sintetazei*** şi a ***ATP,*** ca sursă energetică. Enzima prezintă trei situsuri funcţionale în care se fixează: aminoacidul, ARNt şi AMP.

Ulterior, se formează ***complexul poliribosomic*** prin fixarea complexului metionil-ARNt (ce corespunde codonului iniţiator al translaţiei) la subunitatea mică a ribosomului (40S) la nivelul capătului 5' al ARNm. După fixare, complexul se deplasează spre capătul 3' al moleculei de ARNm, până când întâlneşte codonul iniţiator AUG. În acest moment, se ataşează şi subunitatea mare a ribosomului (60S) iar ribosomul este complet activat, rezultând trei situsuri funcţionale: ***aminoacil, peptidil*** şi ***enzimatic.***

Situsul peptidil este liber, iar la nivelul situsului enzimatic se fixează peptidil-transferaza.

V.2.3.2. Elongaţia

Elongaţia începe prin fixarea, la nivelul situsului peptidil, a complexului aminoacid$_2$-ARNt (figura V.6.). În prezenţa peptidiltransferazei, între gruparea aminică a aminoacidului 2 şi gruparea

[52] Singura excepţie există în mitocondrii unde UGA codifică triptofanul, AUA metionina şi CUA treonina

carboxil a metioninei se formează o legătură peptidică, rezultând complexul metionil-aminoacil$_2$-ARNt, ataşat la situsul peptidil.

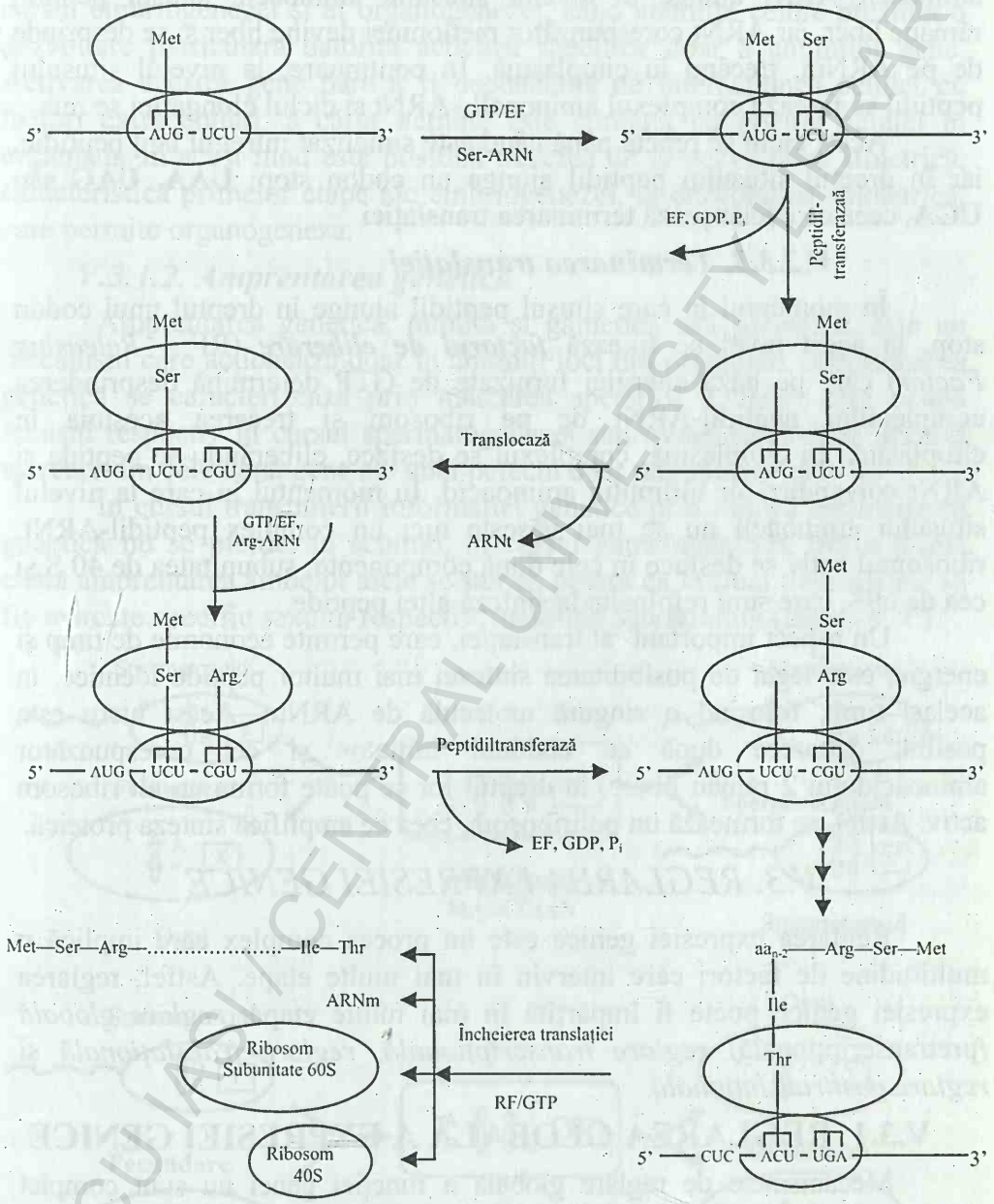


Figura V.6. Etapele translației

Met – metionină; Ser – serină; Arg – arginină; Ile – izoleucină; Thr – treonină; EF – factor de elongație; RF – factor de eliberare; GTP – acid guanintrifosforic; GDP – acid guanindifosforic;

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

În prezența translocazei, ribosomul activ se deplasează de-a lungul ARNm, cu trei nucleotide, în direcția 5'→3'. Astfel, complexul metionil-aminoacil$_2$-ARNt ajunge la nivelul situsului aminoacil, situsul peptidil rămâne liber, iar ARNt corespunzător metioninei devine liber şi se desprinde de pe ARNm, trecând în citoplasmă. În continuare, la nivelul situsului peptidil se fixează complexul aminoacil$_3$-ARNt şi ciclul elongației se reia.

Acest ciclu se repetă până când este sintetizat întregul lanț peptidic, iar în dreptul situsului peptidil ajunge un codon stop: **UAA, UAG** sau **UGA**, ceea ce declanşează terminarea translației

V.2.3.3. Terminarea translației

În momentul în care situsul peptidil ajunge în dreptul unui codon stop, la acest nivel se fixează ***factorul de eliberare*** (RF – *Releasing Factor*) care pe baza energiei furnizate de GTP determină desprinderea complexului peptidil-ARNt de pe ribosom şi trecerea acestuia în citoplasmă. În citoplasmă, complexul se desface, eliberându-se peptida şi ARNt corespunzător ultimului aminoacid. În momentul în care la nivelul situsului aminoacil nu se mai găseşte nici un complex peptidil-ARNt, ribosomul activ se desface în cele două componente: subunitatea de 40 S şi cea de 60S, care sunt refolosite la sinteza altei peptide.

Un aspect important al translației, care permite economie de timp şi energie, este legat de posibilitatea sintezei mai multor peptide identice, în acelaşi timp, folosind o singură moleculă de ARNm. Acest lucru este posibil, deoarece după ce codonul inițiator şi cel corespunzător aminoacidului 2 rămân libere, în dreptul lor se poate forma un alt ribosom activ. Astfel, se formează un poliribosom, ceea ce amplifică sinteza proteică.

V.3. REGLAREA EXPRESIEI GENICE

Reglarea expresiei genice este un proces complex care implică o multitudine de factori care intervin în mai multe etape. Astfel, reglarea expresiei genice poate fi împărțită în mai multe etape: *reglare globală (*pretranscripțională*) reglare transcripțională, reglare translațională* şi *reglare posttranslațională.*

V.3.1. REGLAREA GLOBALĂ A EXPRESIEI GENICE

Mecanismele de reglare globală a funcției genei nu sunt complet elucidate. Totuşi, a fost posibilă identificarea unor factori care influențează mai multe gene din acelaşi domeniu cromosomic. Dintre aceste mecanisme pot fi enumerate: *semnalizarea localizată dependentă de poziția celulei, amprentarea genetică, recombinările somatice şi competiția pentru activator/inhibitor.*

V.3.1.1. Semnalizarea localizată dependentă de poziția celulei

Semnalizarea localizată dependentă de poziția celulei intervine în cursul embriogenezei şi al organogenezei, când anumite celule prezintă o dezvoltare particulară datorită activării specifice doar a anumitor gene. Activarea acestor gene pare a fi dependentă de interacțiunea celulei cu factori extracelulari, a căror acțiune este corelată cu poziția celulei în organism. În acest mod este posibilă trecerea de la dezvoltarea simetrică, caracteristică primelor etape ale embriogenezei, la dezvoltarea asimetrică, care permite organogeneza.

V.3.1.2. Amprentarea genetică

Amprentarea genetică, numită şi gametică sau parentală, este un mecanism care acționează doar în anumiți loci din organism. Amprentarea genetică se caracterizează prin marcarea specifică a alelei care ocupă locusul respectiv în cursul spermatogenezei sau ovogenezei. Prin această marcare din cele două gene ale unei perechi doar una rămâne activă.

În cursul transmiterii informației genetice prin mitoză amprentarea genetică nu se pierde. În schimb, în cursul gametogenezei, într-o primă etapă amprentarea ambelor alele se şterge, pentru ca în final toate alelele să fie marcate specific sexului respectiv, masculin sau feminin (figura V.7.).

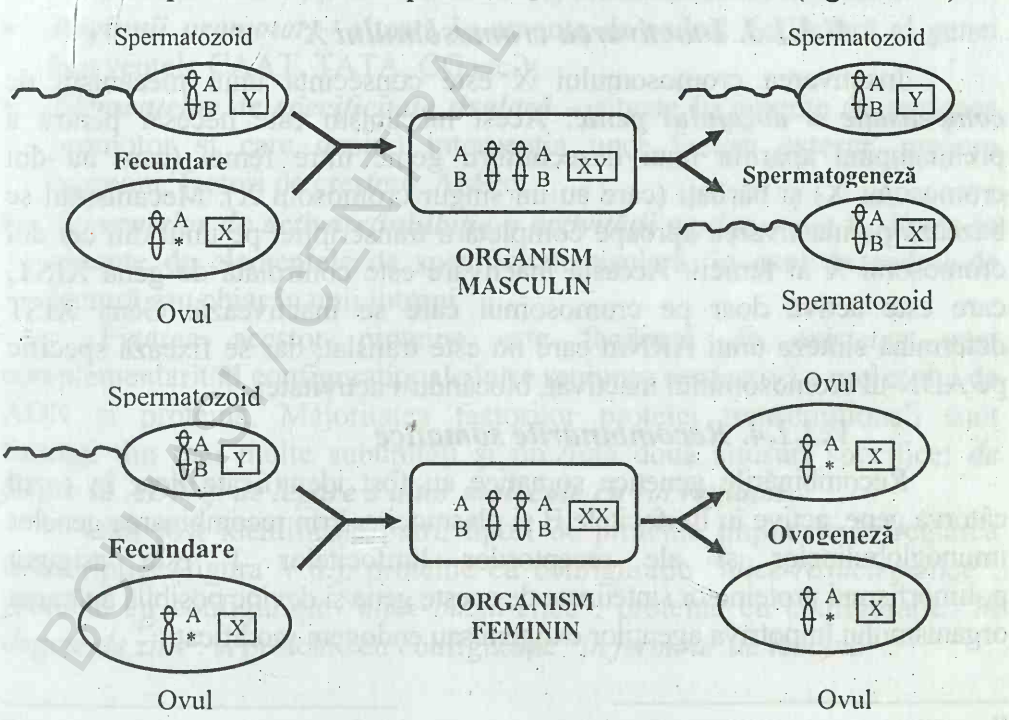


Figura V.7. Amprentarea gametică

Mecanismul prin care se face amprentarea gametică nu este complet elucidat, dar în mod cert în majoritatea cazurilor se produce o hipermetilare a citozinei şi guaninei de pe alela inactivă.

Se pare că amprentarea a jucat un rol important în cursul evoluţiei, aspect sugerat de faptul că majoritatea genelor amprentate sunt active în perioada embriogenetică şi că dispariţia amprentării genetice în cazul disomiilor uniparentale sau a unor microdeleţii cromosomice determină boli deosebit de grave, care asociază importante malformaţii congenitale. Exemple de loci supuşi amprentării sunt date în tabelul V.2.

Tabelul V.2. Relaţia dintre locii supuşi amprentării şi patologia umană

Locus	Genă	Alela activă	Anomalie cromosomică	Sindrom asociat
15q11-13	SNRPN	maternă	Microdeleţie paternă DUP maternă	Prader Willi
15q11-13	UBE3A	paternă	Microdeleţie maternă DUP paternă	Angelman
11p15.5	IGF2	Paternă	DUP paternă	Beckwith Wiedeman
11p15.5	H19	Maternă	Microdeleţie maternă	Beckwith Wiedeman

DUP – disomie uniparentală

V.3.1.3. Inactivarea cromosomului X

Inactivarea cromosomului X este consecinţa unui mecanism de ***compensaţie a dozajului genic***. Acest mecanism este necesar pentru a preîntâmpina apariţia unui dezechilibru genic între femei (care au doi cromosomi X) şi bărbaţi (care au un singur cromosom X). Mecanismul se bazează pe inactivarea aproape completă a transcripţiei pe unul din cei doi cromosomi X ai femeii. Această inactivare este controlată de gena **XIST**, care este activă doar pe cromosomul care se inactivează. Gena XIST determină sinteza unui ARNm care nu este translat, dar se fixează specific pe ADN-ul cromosomului inactivat, blocându-i activitatea.[53]

V.3.1.4. Recombinările somatice

Recombinările genetice somatice au fost identificate doar în cazul câtorva gene, active în limfocitele B şi plasmocite. Prin recombinarea genelor imunoglobulinelor şi ale receptorilor limfocitelor T este asigurat polimorfismul proteinelor sintetizate de aceste gene şi devine posibilă apărarea organismului împotriva agenţilor exogeni sau endogeni modificaţi.[54]

[53] vezi Cromatina sexuală

[54] vezi capitolul **Gena unitate de structură, funcţie şi mutaţie**

V.3.1.5. Competiția pentru activator/inhibitor

În cazul unor domenii cromosomice, care conțin gene diferite sau gene ale aceleiași familii, a fost identificată o competiție între gene pentru utilizarea aceluiași factor activator/inhibitor.

De exemplu, în regiunea 11p15.5 genele IGF2 şi H19 concură pentru acelaşi activator. În condiții normale, pe cromosomul de origine paternă este activată gena IGF2 (codifică un factor de creştere celulară) în timp ce pe cromosomul de origine maternă este activată gena H19 (codifică o genă supresoare de tumori),

Un alt exemplu îl constituie familiile genelor α şi β globinelor, a căror activitate depinde de centri regionali de control, care acționează ca un stimulator selectiv al unei singure gene într-o anumită perioadă ontogenetică[11].

V.3.2. REGLAREA TRANSCRIPȚIONALĂ

Realizarea transcripției este asigurată de ARN-polimeraza II, care determină sinteza unei molecule de ARNm precursor. Acțiunea izolată a acestei enzime nu este suficientă pentru transcripție, fiind necesară prezența unor factori transcripționali, precum: *proteine cu configurație particulară, receptorii hormonali nucleari* sau *proteine reglatoare specifice de organ.*

Factorii transcripționali au situsuri specifice de fixare la nivelul:

- ***Regiunii promotor*** – situată în amonte de cadrul de lectură al genei (secvențele CAAT, TATA, CG etc.);
- ***Elementelor de specificitate tisulară*** – situate în amonte de regiunea promotor şi care depind intervenția unor factori externi, precum hormoni, factori de creştere, AMPc;
- ***Secvențelor de activare/inhibiție a activității genice*** – pot fi situate în amonte de elementele de specificitate tisulară, în aval de cadrul de lectură sau chiar în unii introni[55].

Fixarea acestor proteine este facilitată de existența unei complementarități configurationale între regiunea respectivă a moleculei de ADN şi proteină. Majoritatea factorilor proteici transcripționali sunt formați din mai multe subunități şi prezintă două situsuri specifice: ***de fixare la ADN*** şi ***de legare a altor molecule cu rol reglator.***

Au fost identificate patru tipuri de proteine implicate în reglarea transcripției (figura V.8.): proteine cu configurație "*elice-răsucire-elice*", proteine cu configurație "*elice-buclă-elice*", proteine cu configurație "*în degete de zinc*" şi proteine cu configurație "*în fermoar de leucină*".

---

[55] vezi capitolul Gena unitate de structură, funcție şi mutație (concepția actuală despre structura genei)

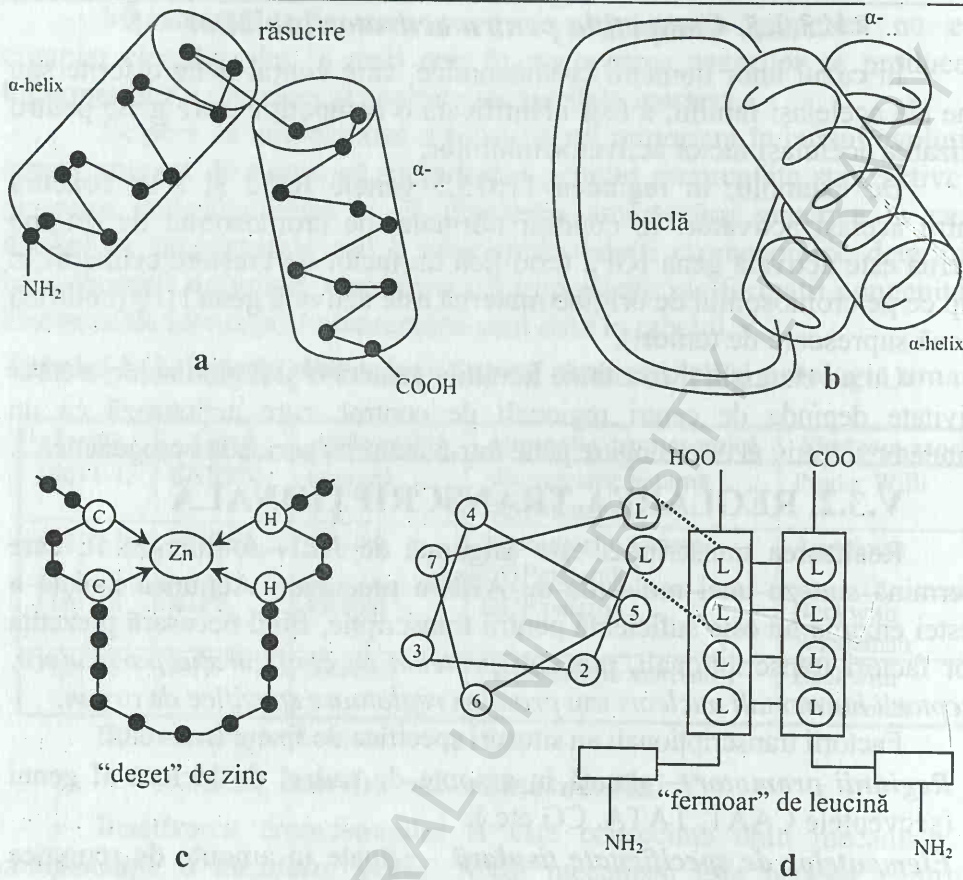


Figura V.8. Configuraţia factorilor proteici de transcripţie

a – configuraţie "elice—răsucire—elice"; b – configuraţie "elice—buclă—elice"; c – configuraţie în "deget" de zinc; d – configuraţie în "fermoar" de leucină

Proteinele cu o **configuraţie *"elice-răsucire-elice"*** (figura V.8.a) sunt constituite din două spirale proteice de tip α, unite printr-o scurtă secvenţă de aminoacizi, la nivelul căreia se realizează o răsucire a moleculei. Din această categorie de factori proteici pot fi enumeraţi:

- factorul nuclear I (NFI – *nuclear factor I*);
- factorii de fixare pe secvenţa CAAT (CTF – *CAAT transcriptional factors)*;
- proteinele de fixare a factorilor transcripţionali ataşaţi la nivelul secvenţei CAAT (CBP – *CAAT binding proteins*);
- stimulatorii cu fixare la factorii transcripţionali ataşaţi la nivelul secvenţei CAAT (E/CBP – *enhancers of CAAT binding proteins*).

Proteinele care adoptă o ***configuraţie "elice – buclă – elice"*** (figura V.10.b) sunt constituite din două spirale de tip α, unite printr-o buclă lungă flexibilă. Dimerii formaţi din două proteine identice se fixează ferm la

BCU CLUJ / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

molecula de ADN, în timp ce heterodimerii formează legături slabe cu ADN-ul. În acest mod, formarea dimerilor asigură mecanismul de control al funcției genice, permițând inactivarea unor proteine reglatorii.

Proteinele care adoptă o ***configurație în "degete de zinc"*** (figura V.10.c) se fixează la ADN datorită unei configurații laterale (asemănătoare unui "deget") care conține câte 23 de aminoacizi și în care este coordinat un atom de zinc de două resturi de cisteină și două resturi de histidină sau patru resturi de cisteină. Din această categorie de factori reglatori pot fi enumerați: receptorii nucleari sterodici (corticosteron, aldosteron, estrogeni, progesteron, androgeni) sau receptorii pentru LDL (*low density lypoprotein*).

Proteinele care adoptă o ***configurație în "fermoar de leucină"*** (figura V.10.d) sunt constituite din două spirale de tip α, unite prin legăturile formate între resturile de leucină localizate într-o anumită regiune a celor două molecule (legături de tip "fermoar").

V.3.3. REGLAREA POSTTRANSCRIPȚIONALĂ

Reglarea posttranscripțională a expresiei genice este reprezentată de mecanismele care asigură maturarea moleculei de ARNm.

V.3.3.1. Unități transcripționale multigenice

Folosirea unei singure unități transcripționale multigenice pentru sinteza mai multor produși funcționali este un mecanism rar folosit în genomul organismelor superioare. Cele mai cunoscute exemple de acest fel sunt: sinteza celor trei subunități ale ARNr și sinteza proteinelor genelor mitocondriale. În cazul ARNr, cele trei subunități de 18S, 5,8S și 28S sunt sintetizate pe baza unui transcript primar comun de 45S. În cursul maturării preARNr, sub acțiunea unor exonucleaze, se produc mai multe clivări ale transcriptului primar, care conduc la sinteza celor trei tipuri de ARNr

V.3.3.2. Matisarea și poliadenilarea alternativă

Matisarea alternativă a exonilor și poliadenilarea alternativă a unui preARNm este un mecanism frecvent întâlnit la organismele superioare. Astfel, în celule diferite, pe baza informației genetice a aceleiași gene pot fi sintetizate peptide similare sau diferite.

Un exemplu îl reprezintă matisarea alternativă a exonilor genei calcitoninei. În tiroidă pe baza informației genetice a acestei gene se sintetizează calcitonina, în timp ce în neuroni este sintetizat CGRP[56]. În cazul genei calcitoninei la mecanismul de matisare alternativă se adaugă și unul de poliadenilare selectivă.

[56] vezi capitolul **Gena unitate de structură, funcție și mutație**

V.3.3.3. Modificarea secvenței nucleotidice a ARNm

Modificarea secvenței nucleotidice a ARNm este un proces enzimatic prin care pot fi înlăturate (deleții) sau introduse (inserții, substituții) noi nucleotide într-o moleculă de ARNm. În majoritatea cazurilor, secvența nucleotidică a ARNm este modificată prin substituția **C→U** sau **U→C**.

La om acest mecanism intervine doar în câteva cazuri, precum procesarea posttranscripțională a ARNm al genei WT1, a genei apolipoproteinei B sau a genei receptorului pentru glutamat.

V.3.4. REGLAREA TRANSLAȚIONALĂ

Reglarea translațională a expresiei genice este un mecanism puțin utilizat. Un exemplu îl constituie modificarea sintezei transferinei şi a receptorului pentru această proteină.

Transferina este proteina care transportă fierul de la nivelul intestinului subțire, unde se absoarbe, la nivelul măduvei osoase hematogene, unde este încorporat în hemoglobină. În prezența unui nivel crescut al ionului feric, sinteza de transferină se amplifică la nivel translațional, fără a exista o modificare a transcripției. De asemenea, în cazul unui nivel redus al fierului se produce o creştere a producției receptorului pentru feritină, prin modificarea translației.

Acest lucru este posibil, deoarece ARNm al transferinei prezintă în regiunea 5' (netranslată) o serie de elemente sensibile la fier (IRE – *iron response element)* la nivelul cărora se fixează o serie de proteine specifice, activate de nivelul redus al fierului. O modulare similară intervine şi în cazul receptorului pentru transferină, al cărui ARNm prezintă elemente sensibile la fier în regiunea 3' (netranslată).

V.3.5. REGLAREA POSTTRANSLAȚIONALĂ

Numeroase peptide suferă după terminarea translației o serie de modificări care le conferă funcții specifice. În general, modificările posttranslaționale ale peptidelor pot fi de două tipuri: ***adăugarea unor grupări funcționale*** şi ***clivarea moleculei peptidice la nivelul unor situsuri specifice.***

V.3.5.1. Modificări chimice posttranslaționale

Modificările chimice postranslaționale pot fi simple sau complexe. Modificările chimice simple sunt:

- ***fosforilarea*** - la nivelul radicalilor de tirozină, serină sau treonină în prezența unor kinaze specifice;
- ***metilarea*** - la nivelul radicalilor de lizină în prezența metilazelor, reacția inversă fiind catalizată de demetilaze;

- ***hidroxilarea*** prolinei sau lizinei conduce la formarea hidroxiprolinei şi hidroxilizinei, aminoacizi prezenţi în special în structura colagenului;
- ***acetilarea*** - la nivelul resturilor de lizină, în prezenţa acetilazelor - procesul este reversibil în prezenţa deacetilazelor;
- ***carboxilarea*** - la nivelul glutaminei, în prezenţa γ-carboxilazei.

Modificările chimice complexe constau în adăugarea la lanţul peptidic a unor grupe prostetice: glucidice, lipidice, metalice etc.

Un exemplu este glicozilarea peptidelor. Glicozilarea constă în fixarea unui rest de N-acetilglucozamină la nivelul serinei sau treoninei, rezultând un proteoglican. Mult mai frecvent sunt adăugate blocuri de oligozaharide, prin N-glicozilare sau O-glicozilare. De regulă, procesele de glicozilare se produc la nivelul reticulului endoplasmic sau al aparatului Golgi, fiind implicate proteinele secretate de celulă.

V.3.5.2. Clivarea posttranslaţională a peptidelor

Clivarea posttranslaţională a peptidelor reprezintă un mecanism frecvent întâlnit, în special în cazul sintezei hormonilor, factorilor de creştere, proteinelor plasmatice, neurohormonilor sau a altor substanţe ce trebuie secretate din celula de origine, iar activarea lor se produce la distanţă.

Totuşi, clivarea posttranslaţională intervine şi în maturarea altor proteine, precum se întâmplă în cursul formării β-globinei, când este îndepărtat primul aminoacid al lanţului peptidic: metionina.

Proteinele care sunt secretate sau cele care trebuie să străbată membrane intracelulare sunt sintetizate sub forma unor precursori, care la capătul amino- prezintă o ***secvenţă semnal*** (secvenţă lider).

Această scurtă secvenţă de aminoacizi este recunoscută de proteinele transportoare, care se fixează la acest nivel, facilitând traversarea membranelor inter- sau intracelulare. După ce proteina a ajuns la destinaţie, secvenţa lider este îndepărtată şi se formează proteina activă. De exemplu, pe baza ARNm al genei insulinei este sintetizată iniţial *preproinsulina*, care are o secvenţă lider ce cuprinde aminoacizii de la 1 la 24. Prin îndepărtarea secvenţei lider rezultă *proinsulina*, care conţine doar 86 de aminoacizi (secvenţa 25-110 a preproinsulinei). În final, se produce maturarea insulinei prin două noi clivări: între aminoacizii 30 şi 31, respectiv 65 şi 66, rezultând:

- *lanţul A* (aminoacizii 66-86);
- *lanţul B* (aminoacizii 1-30);
- peptidul de legătură C (aminoacizii 31-65).

B.C.U. „M. EMINESCU" IAŞI BIOLOGIE

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

VI. TRANSMITEREA INFORMAȚIEI GENETICE

Din cele mai vechi timpuri a fost observată existența unei similitudini între părinți și copii. În plus, în cazul gemenilor, uneori, asemănările deosebit de marcante, fac imposibilă identificarea indivizilor. Aceste similitudini au fost explicate la jumătatea secolului XIX, când Gregor Mendel, studiind transmiterea de la o generație la alta a caracteristicilor mazărei, a stabilit legile fundamentale ale transmiterii informației ereditare.

Ulterior, prin dezvoltarea geneticii și a tehnicilor de analiză genetică, au fost stabilite toate etapele prin care informația genetică, stocată sub formă de cromosomi, se transmite de la o generație de celule la următoarea, în cadrul aceluiași organism, respectiv de la o generație de organisme la următoarea.

Transmiterea informației genetice implică două procese corelate funcțional: ***replicarea ADN-ului*** (dublarea cantității de material gnetic a celulei) și ***diviziunea celulei*** (împărțirea totală și egală a materialului genetic replicat, cu formarea a două celule fiice identice sau nu cu celula de origine).

VI.1. LEGILE MENDEL

Legile Mendel sau legile transmiterii caracterelor ereditare monogenice, au fost stabilite de Gregor Mendel pe baza studiului mazărei de grădină (*Pisum sativatum*). Studiile botanistului ceh au fundamentat principiile segregării și asortării independente a factorilor ereditari (denumiți ulterior gene) și au definit fenotipic noțiunile de dominanță și recesivitate.

Cercetătorul a observat că la mazăre pot exista 4 tipuri de boabe, care diferă prin aspect (netede și zbârcite) și culoare (verde și galbenă). În cazul fecundării încrucișate a plantelor cu caracteristici diferite (generația P - parentală) de exemplu, mazăre cu boabe netede și mazăre cu boabe zbârcite, Mendel a observat că toate plantele obținute prin această hibridare au numai boabe netede (generația F1 - filială). În plus, prin autofecundarea plantelor din generația F1, în generația F2 a reapărut caracterul absent în generația F1, iar proporția între boabele netede și boabele zbârcite a fost de 3:1.

Într-un al doilea experiment, Mendel a făcut o dublă hibridare între mazăre cu boabe netede de culoare galbenă și mazăre cu boabe zbârcite de culoare verde (generația P). Prin această dublă încrucișare, în prima generație filială (F1) toate boabele erau netede și aveau culoare galbenă. Prin autofecundarea plantelor din generația F1, în generația F2 a reapărut mazărea cu boabe zbârcite și de culoare verde, dar totodată au apărut doi

hibrizi noi: mazăre cu boabe netede de culoare verde şi mazăre cu boabe zbârcite de culoare galbenă. Proporţia celor patru tipuri de mazăre a fost: bob neted şi galben : bob neted şi verde : bob zbârcit şi galben : bob zbârcit şi verde = 9:3:3:1.

Pe baza acestor experimente Mendel a stabilit cele două legi care-i poartă numele:

- **Legea purităţii gameţilor** – în cursul meiozei, cei doi membri ai unei perechi de gene segregă, iar gameţii au numai una din aceste gene, fiind "puri" din punct de vedere genetic;
- **Legea asortării independente a genelor** – în cursul meiozei, alelele parentale, care ocupă loci diferiţi au tendinţa de a se asorta în gameţi, în mod independent unele de altele; astfel transmiterea alelei unui anumit locus nu este influenţată de transmiterea alelei altui locus.

Cele două legi sunt universal valabile la toate speciile de animale şi plante cu reproducere sexuată, inclusiv la om.

Demonstrarea validităţii acestor legi la specia umană se poate face luând în considerare caractere ereditare cu transmitere monogenică, între gene existând relaţii de dominanţă-recesivitate.

VI.1.1. LEGEA a-I-a A LUI MENDEL

Pentru demonstrarea legii a-I-a a lui Mendel considerăm o pereche de gene alele: una dominantă şi una recesivă - de exemplu, genele A_1 (dominantă) şi **0** (recesivă) ale sistemului de grup sanguin AB0. În condiţiile unui cuplu în care un individ are genotip A_1A_1 (grup sanguin A_1) şi celălalt **00** (grup sanguin **0**) toţi copiii acestui cuplu vor fi avea grupul sanguin A_1, moştenind o genă A_1 de la un părinte şi o genă **0** de la celălalt părinte (generaţia F1). În cazul în care unul dintre copii se căsătoreşte cu un individ de asemenea heterozigot (A_10) în generaţia filială F2 pot exista copii cu grup sanguin **0**, care au moştenit gena recesivă **0** de la ambii părinţi. Proporţia teoretică a fenotipurilor în generaţia F2 este A_1**:0**=3:1, în timp ce proporţia celor trei genotipuri este A_1A_1:A_1**0:00**=1:2:1 (figura VI.1.).

VI.1.2. LEGEA a-II-a A LUI MENDEL

La om, demonstrarea legii a-II-a a lui Mendel se poate face utilizând două caractere monogenice diferite. Ca exemplu, luăm în considerare un cuplu de doi indivizi homozigoţi, unul dintre parteneri având grupa sanguină A_1 şi este secretor, în timp ce celălalt partener are grupa sanguină **0** şi este nesecretor. Un astfel de cuplu are toţi copiii secretori cu grupa sanguină A_1 (generaţia F1) (figura VI.2.).

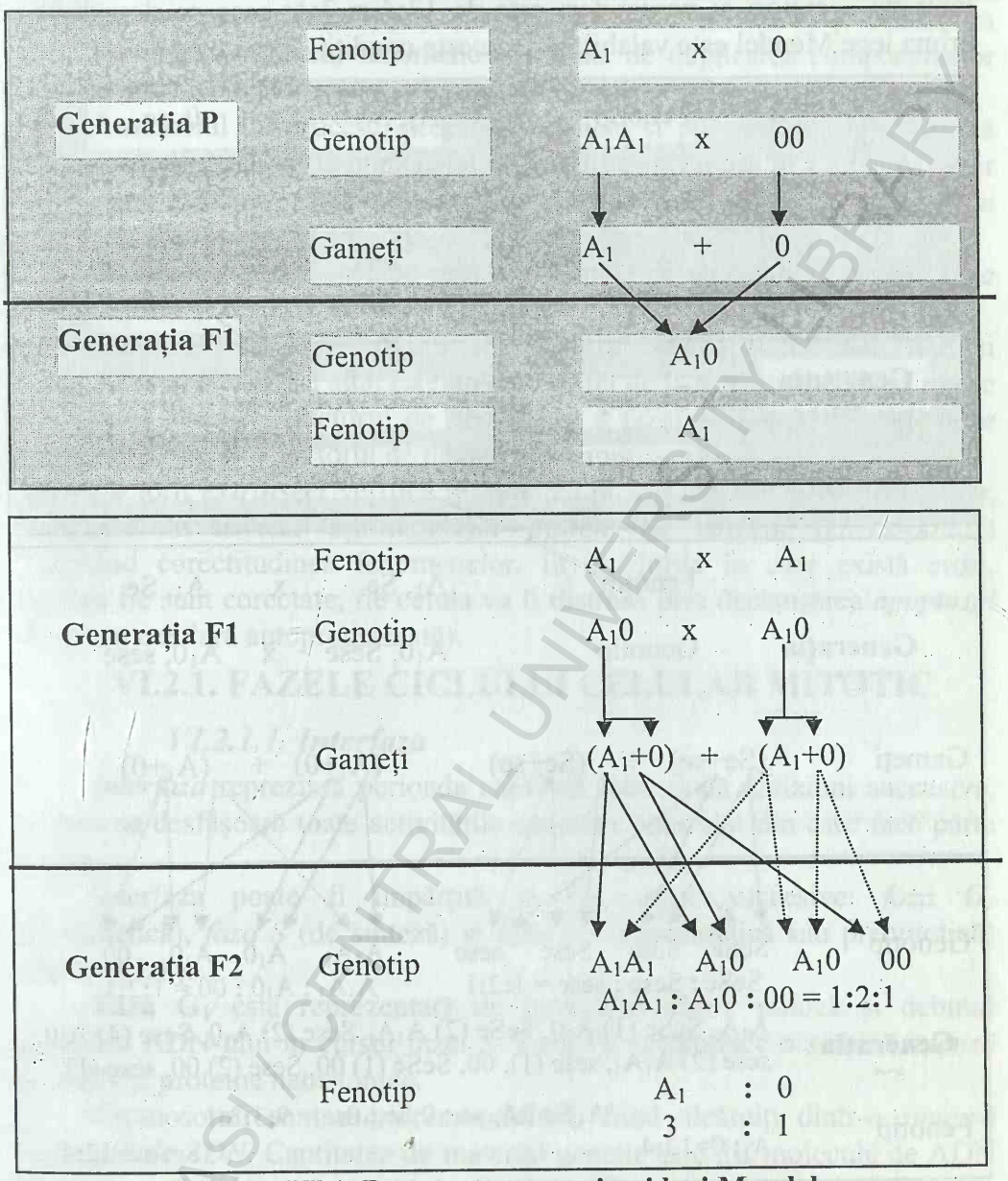


Figura VI.1. Demonstrarea primei legi Mendel

În cazul căsătoriei unuia din aceşti copii cu un individ de asemenea dublu heterozigot, în generația F2 pot apărea copii secretori cu grupa sanguină **A_1**, copii secretori cu grupa sanguină **0**, copii nesecretori cu grupa sanguină **A_1** şi copii nesecretori cu grupa sanguină **0**. Raportul celor patru fenotipuri este: secretori cu grupa sanguină **A_1** : secretori cu grupa sanguină **0** : nesecretori cu grupa sanguină **A_1** : nesecretori cu grupa sanguină **0** = 9:3:3:1. Rapoartele dintre cei cu grupe sanguine A_1 şi 0, respectiv cel dintre

indivizii secretori şi nesecretori este de 12:4 = 3:1, ceea ce dovedeşte că prima lege Mendel este valabilă şi în aceste condiţii

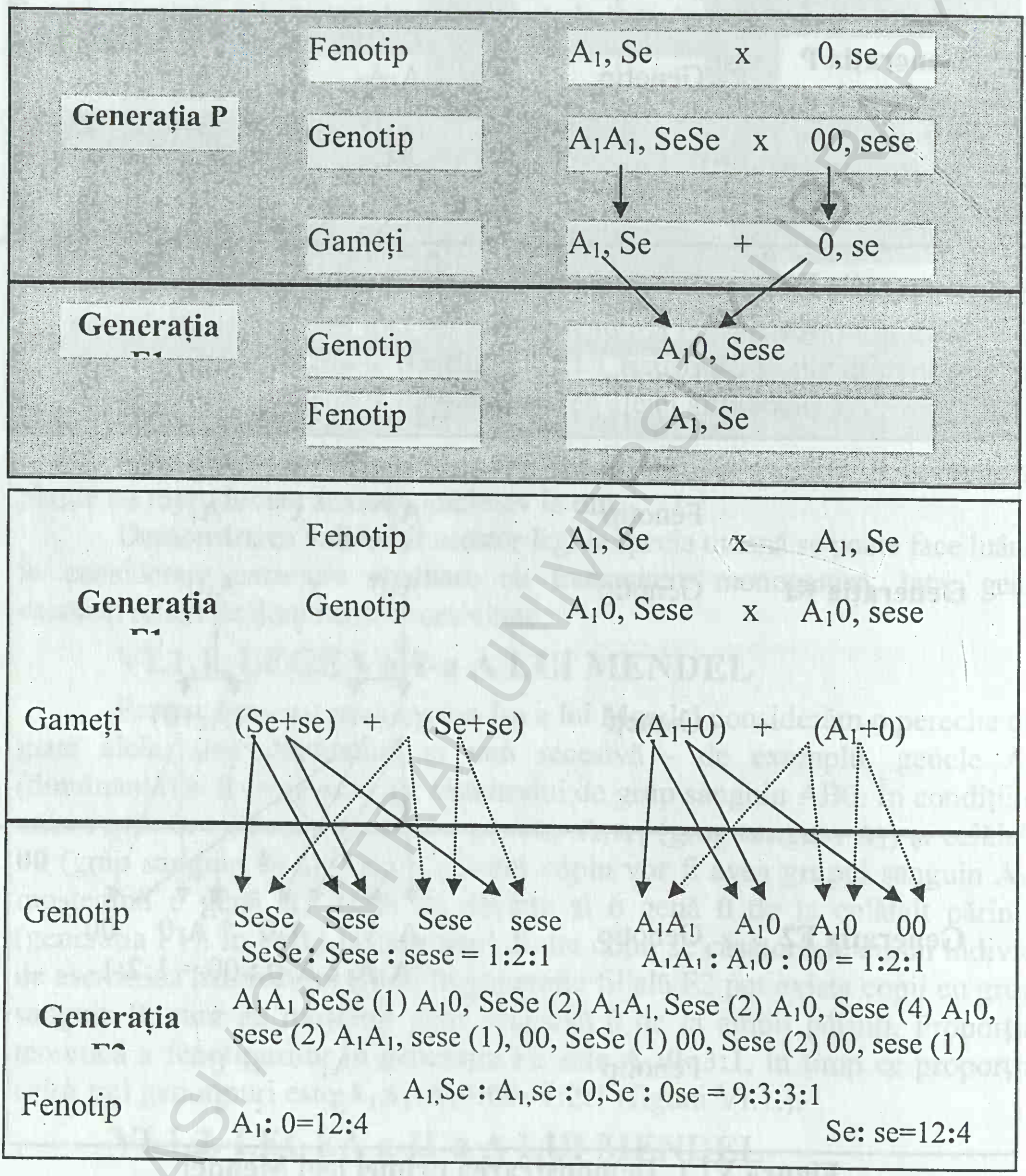


Figura VI.2. Demonstrarea celei de-a doua legi Mendel
Se – secretor; se - nesecretor

VI.2. CICLUL CELULAR

Trecerea de la stadiul de zigot, ce semnifică începutul vieţii, la un organism complex, care conţine aproxiamtiv 100 trilioane (10^{14}) celule, necesită un proces intens de multiplicare pentru crearea de noi celule diploide.

Acest proces se realizează prin mitoză (diviziune nucleară) și citokineză (diviziune citoplasmatică) fenomene precedate de duplicarea componentelor celulare, inclusiv a ADN-ului în timpul interfazei.

Ansamblul de procese, precis coordonate și programate, care asigură duplicarea celulară poartă numele de **ciclu celular** și constă în alternarea celor două etape esențiale: *interfaza* și *diviziunea* (figura VI.3.). durata ciclului celular este în medie 24 ore, cu variații de la câteva ore la 1 an.

Această alternare se face prin două tipuri de mecanisme specifice de supraveghere și control: intrinseci și extrinseci.

Factorii ***intrinseci*** asigură fenomenele caracteristice unei faze și tranziția de la o etapă la alta. Exemple de astfel de factori sunt: **SPF** (*S phase Promoting Factor* – factorul de declanșare a fazei S) sau **MPF** (*M phase Promoting Factor* – factorul de declanșare a mitozei).

Factorii ***extrinseci*** verifică terminarea proceselor specifice unei etape, acționând la nivelul așa-numitelor ***puncte de control*** (*check-points*) analizând corectitudinea fenomenelor. În condițiile în care există erori, acestea fie sunt corectate, fie celula va fi distrusă prin declanșarea ***apoptozei*** (moartea celulară autoprogramată).

VI.2.1. FAZELE CICLULUI CELULAR MITOTIC

VI.2.1.1. Interfaza

Interfaza reprezintă perioada cuprinsă între două diviziuni succesive, în care se desfășoară toate activitățile specifice țesutului din care face parte celula.

Interfaza poate fi împărțită în trei etape succesive: *faza* G_1 (presintetică), *faza S* (de sinteză) și *faza* G_2 (postsintetică sau premitotică) (figura VI.4.).

Faza G_1 este reprezentată de intervalul dintre mitoză și debutul replicării ADN-ului în cursul fazei S. Faza G_1 se produce o *sinteză intensă de* ARN și proteine nehistonice.

Cromosomii sunt ***monocromatidieni,*** fiind alcătuiți dintr-*o singură moleculă de ADN.* Cantitatea de material genetic este 2C molecule de ADN sub forma a 2n (46) cromosomi despiralizați (figura V.3.).

Limitarea substanțelor nutritive, prezența unor substanțe inhibitoare sau absența factorilor de creștere celulară determină oprirea ciclului celular într-un punct de restricție **R**, care poate constitui o fază distinctă în cadrul fazei G_1, numită ***faza*** G_0 și considerată ca o etapă de repaos celular (fază de „supraviețuire" celulară).

Faza S se caracterizează prin *sinteză de ADN* (realizată prin ***replicare semiconservativă***) și *sinteză de histone.* Astfel, este asigurată o *dublare* a

cantităţii de material genetic (4C), condiţie obligatorie pentru desfăşurarea diviziunii celulare. Numărul de cromosomi rămâne 46, dar fiecare cromosom va fi ***bicromatidian***, fiind alcătuit din două cromatide identice (*"surori"*) şi conţine două molecule de ADN.

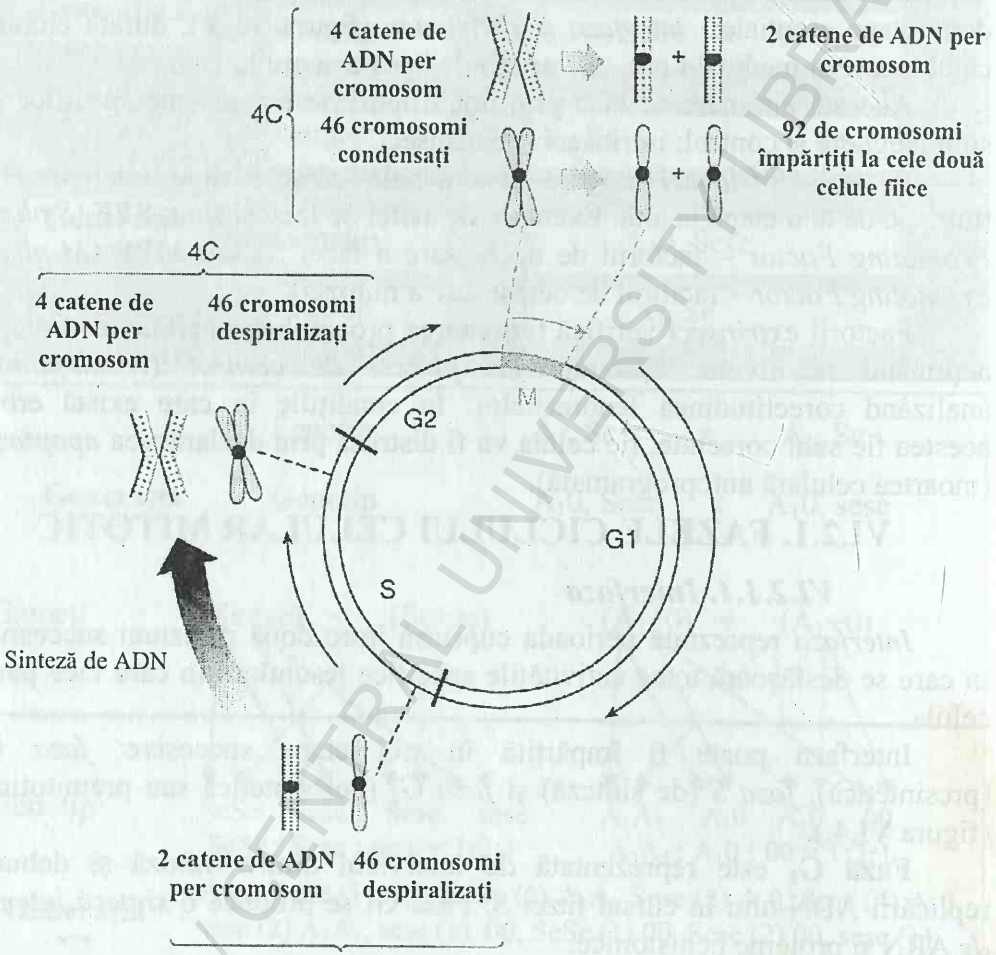


Figura VI.3. Ciclul celular mitotic

Replicarea ADN-ului în faza S este ***asincronă***: unele segmente de ADN (bogate în perechi de baze G-C - eucromatină) se replică *precoce*, la începutul fazei S, în timp ce alte segmente (bogate în perechi de baze A-T - heterocromatină) se replică *tardiv*, la sfârşitul fazei S.

Faza G_2 se caracterizează prin *sinteza unor proteine specifice* şi a unor mici cantităţi de ADN. Fiecare cromosom este *bicromatidian,* dar despiralizat. Trecerea de la faza G_2 la faza M se face face prin activarea *factorului de*

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

declanşare al mitozei (MPF), care determină condensarea filamentelor de cromatină în cromosomi şi formarea fusului de diviziune. În lipsa factorului de condensare celulele *se opresc în faza G_2* şi pot abandona ciclul celular, formându-se *celule tetraploide* (4n cromosomi). (figura V.4.).

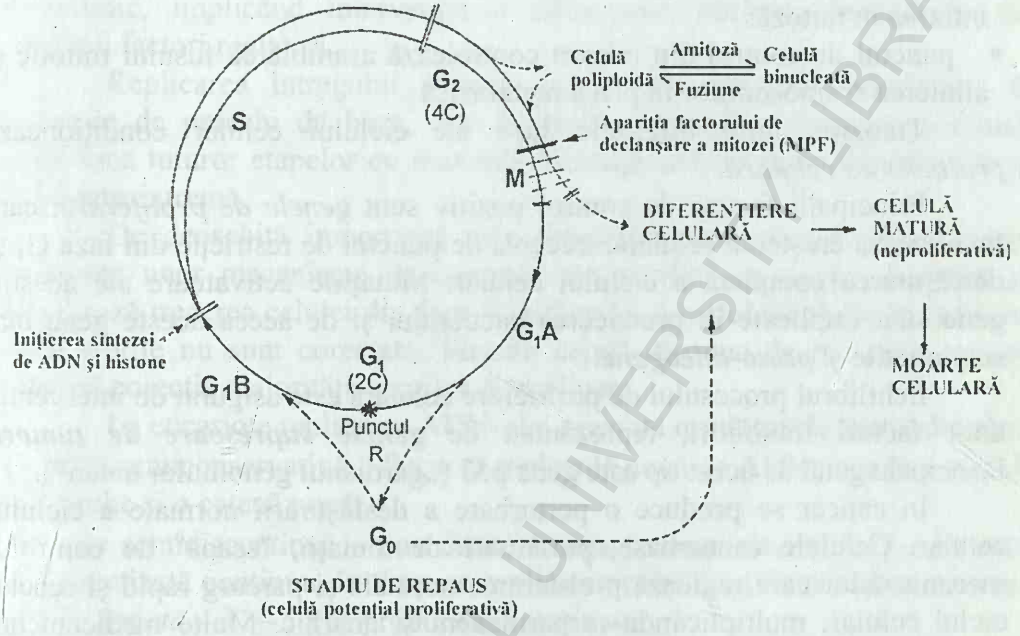


Figura VI.4. Fazele ciclului celular mitotic şi evoluția celulelor rezultate prin diviziune

VI.2.1.2. Diviziunea celulară

Diviziunea celulară sau *faza M* ("mitotică") este alcătuită dintr-o serie de procese secvențiale prin care materialul genetic *se distribuie egal şi total,* formând doi nuclei distincți, iar celula se împarte în două celule fiice (citokineză) *identice genetic* cu celula din care au provenit. În această etapă, materialul genetic dublat în interfază (4C molecule ADN - 46 cromosomi bicromatidieni) segregă, *distribuindu-se în mod egal şi total* celulelor "fiice" (2C molecule ADN - 46 cromosomi monocromatidieni).

Tranziția de la o fază la alta a ciclului celular este controlată prin mecanisme specifice extrinseci, care acționează în ***punctele de control*** ale ciclului celular. Aceste mecanisme verifică procesele specifice fiecărei etape şi depistează eventualele alterări ale componentelor celulare implicate în replicare şi segregare cromatidiană. În cazul identificării unor defecte se blochează progresia în ciclul celular şi se induce „repararea" sau, dacă aceasta nu este posibilă, apoptoza.

SCANNED BY CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Au fost descrise trei puncte de control:

- punctul de control G_1/S condiţionează trecerea spre faza S în funcţie de integritatea ADN; el este controlat de gena p53 ("gardianul genomului uman");
- punctul de control G_2/M verifică replicarea ADN din faza S şi determină intrarea în mitoză;
- punctul de control din mitoză controlează asamblarea fusului mitotic şi alinierea cromosomilor în placa metafazică

Tranziţia între diferitele faze ale ciclului celular condiţionează *proliferarea celulară.*

Principalii factori de control pozitiv sunt *genele de proliferare*, care favorizează creşterea celulară, trecerea de punctul de restricţie din faza G_1 şi desfăşurarea completă a ciclului celular. Mutaţiile activatoare ale acestor gene sunt implicate în producerea cancerului şi de aceea aceste gene mai sunt numite şi ***proto-oncogene.***

Echilibrul procesului de proliferare celulară este asigurat de intervenţia unor factori inhibitori, reprezentaţi de ***genele supresoare de tumori.*** Principala genă de acest tip este gena p53 („gardianul genomului uman").

În cancer se produce o perturbare a desfăşurării normale a ciclului celular. Celulele canceroase, purtătoare de mutaţii, "scapă" de controlul mecanismelor care reglează proliferarea normală şi parcurg rapid şi repetat ciclul celular, multiplicându-se permanent şi anarhic. Multe medicamente anticanceroase (citostatice) determină "blocarea" proliferării celulelor, prin oprirea evoluţiei lor în diferite faze ale ciclului celular.

VI.2.2. EVOLUŢIA CELULELOR DUPĂ DIVIZIUNE

Celulele rezultate prin diviziune pot evolua în trei direcţii: *proliferare, diferenţiere* sau trecerea în *stadiul de repaus.*

O parte din celulele rezultate din diviziune parcurg un nou ciclu, se divid repetat şi alcătuiesc *compartimentul proliferativ* al organismului. Aceste celule se găsesc în ţesuturile embrionare, măduva hematogenă, stratul bazal al epidermului.

Celulele care se diferenţiază părăsesc ciclul celular şi se transformă în *celule specializate*, au structuri şi funcţii particulare, *nu se mai divid* şi mor după consumarea potenţialului biologic.

În anumite condiţii (lipsa factorilor de creştere, a aminoacizilor sau prezenţa unor inhibitori ai sintezei proteinelor etc.) celulele rezultate din mitoză trec într-o fază de *activitate metabolică redusă*, numită faza G_0, în care rămân viabile şi pot supravieţui timp îndelungat. Dacă condiţiile restrictive dispar, *celulele G_0 pot reveni în G_1* şi apoi pot progresa spre faza S, deoarece îşi păstrează capacitatea de diviziune.

VI.3. REPLICAREA MOLECULEI DE ADN

Replicarea ADN-ului este simplă din punct de vedere genetic – dublarea cantității de material genetic prin autocopierea informației conținute de ambele catene de ADN – dar foarte complexă din punct de vedere biochimic, implicând intervenția a numeroase enzime, dependente de multipli factori reglatori.

Replicarea întregului genom uman, care conține aproximativ 6 miliarde de perechi de baze, este un proces complex, deoarece necesită realizarea tuturor etapelor cu maximă eficiență, într-un timp limitat și cu o fidelitate extremă.

De deosebită importanță este fidelitatea autocopierii, dovedită de existența unor mecanisme de control care verifică acuratețea acesteia și blochează trecerea celulei din faza S în faza G_2 a ciclului celular în cazul în care erorile nu sunt corectate. Fiecare celulă dispune de mecanisme care asigură corecția majorității erorilor de replicare.

La eucariote replicarea ADN-ului prezintă următoarele particularități:

- este semiconservativă – fiecarea moleculă nouă de ADN posedă o catenă veche și o catenă nouă;
- este semidiscontinuă – una dintre catene (*catena directă - 5'→3'*) este sintetizată continuu, în timp ce replicarea celei de-a doua catene (*catena întârziată – 3'→5'*) se produce discontinuu;
- este asincronă – regiunile de eucromatină se replică precoce la începutul fazei S, în timp ce regiunile de heterocromatină se replică tardiv la sfârșitul fazei S;
- este multicentrică – replicarea moleculei de ADN debutează concomitent din mai multe puncte – ***origini ale replicării*** - și progresează în ambele direcții, astfel încât rezultă mai multe ***bucle de replicare***.

Inițierea replicării ADN-ului este controlată de o serie de proteine - ***proteine inițiatoare*** care se fixează la nivelul unor situsuri specifice de pe cromosomi, atrăgând enzimele implicate în replicare

Inițierea replicării unei molecule de ADN începe concomitent în mai multe puncte, localizate specific de-a lungul cromosomului, numite ***origini ale replicării*** (**ori**).

Diferitele **ori** sunt separate prin secvențe de ADN de circa 150-200 kb. Astfel, la nivelul întregului genom pot fi identificate aproximativ 30.000 de **ori**. Numărul foarte mare de **ori** a genomului uman explică de ce întregul proces de replicare durează la om doar 8 ore.

De la nivelul fiecărui **ori** replicarea se propagă bidirecțional de-a lungul fiecărei catene de ADN, formând ***bucle de replicare***. Fiecare buclă

reprezintă o unitate de replicare, numită ***replicon***, iar fiecare replicon are un singur **ori**. Replicarea inițiată la nivelul unui **ori** continuă până când bucla de replicare vine în contact cu buclele de replicare adiacente.

Replicarea implică autocopierea ambelor catene de ADN, care servesc ca matrițe complementare pentru sinteza noilor catene de ADN. Totuşi replicarea este imposibilă în condițiile menținerii coeziunii celor două catene prin legăturile de hidrogen dintre bazele azotate complementare.

Desfacerea legăturilor de hidrogen este condiționată de intervenția ***ADN-helicazei***, care rupe punțile de hidrogen, respectiv a ***topoizomerazei*** care reduce tensiunile de torsiune generate de ADN-helicază.

După desfacerea legăturilor de hidrogen, refacerea acestora este împiedicată prin fixarea pe cele două catene de ADN a câte unei molecule din ***proteina de replicare A***.

Acțiunea ***ADN-polimerazei***[57] este facilitată de intervenția unei ***ADN-primaze***, care asigură sinteza unei mici molecule de ARN (cu rol de „amorsă") ce se fixează la nivelul fiecărui **ori**.

De la nivelul fiecărui **ori** ADN-polimeraza asigură ataşarea de nucleotide activate doar în direcția 5'→3'. În final, când a fost sintetizat întregul lanț nucleotidic dintre doi repliconi, amorsa de ARN este îndepărtată, iar ADN-polimeraza ataşează cele două catene de ADN ce provin de la repliconii adiacenți.

În prezența ADN-helicazei şi a proteinei de replicare A, la nivelul fiecărui **ori** se formează două *"furci"* de replicare, care se deplasează în direcții opuse, pe măsură ce replicarea progresează (figura VI.5.).

Replicarea celor două catene de ADN se face în mod diferențiat, datorită particularității ADN-polimerazei care permite ataşarea continuă de nucleotide doar în direcția 5'→3', catena copiată având polaritate inversă 3'→5'.

Catena de ADN nou sintetizată cu polaritate 5'→3' este denumită ***catenă directă***. Replicarea *catenei directe* este asigurată de ADN-polimeraza δ, a cărei activitate este stimulată în prezența unei proteine cu rol de stimulare a activității nucleare, numită **PCNA** – *Proliferating cell nuclear activity*.

În schimb, enzima nu permite polimerizarea nucleotidelor în direcția 3'→5' şi de aceea pe catena *"întârziată"* replicarea se produce tot în direcția 5'→3', dar pe porțiuni limitate, de aproximativ 200 de nucleotide, numite ***fragmente Okazaki***.

---

[57] La om au fost identificate 5 tipuri de ADN-polimerază, notate α, β, γ, δ şi ε. În afara formei γ localizată în mitocondrii, restul enzimelor sunt nucleare. Cea mai importantă izoformă este cea δ, care asigură replicarea pe ambele catene. În schimb, izoformele β şi ε sunt implicate în corecția erorilor de replicare datorită activității exonucleazice, iar ADN-polimeraza α intervine în replicarea catenei *"întârziate"*.

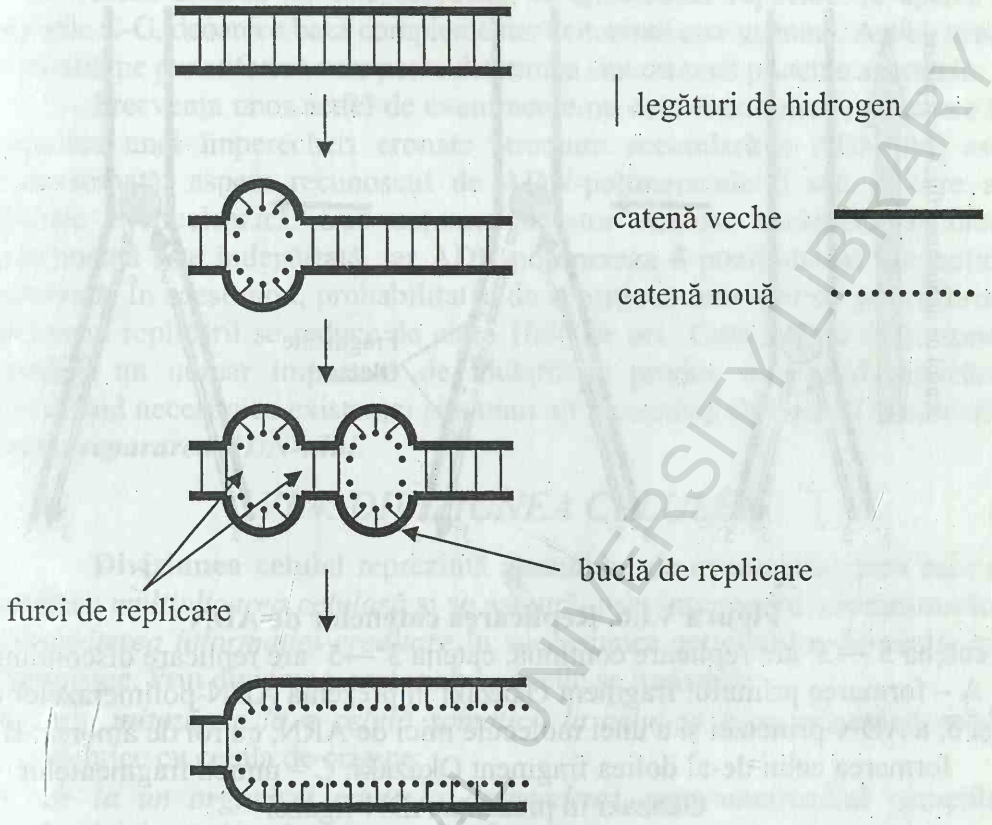


Figura VI.5. Mecanismul replicării

Replicarea la nivelul fragmentelor Okazaki este facilitată de ADN-primază, care asigură, pe de o parte sinteza unei amorse de ARN, iar pe de altă parte fixează ADN-polimeraza **α**, care inițiază replicarea catenei "*întârziate*". Ulterior, complexul ADN-primază/ADN-polimerază **α** este îndepărtat, iar replicarea este continuată de ADN-polimeraza **δ**. După replicarea întregului fragment Okazaki, acesta este conectat la fragmentele adiacente în prezența unei ***ADN-ligaze*** (figura VI.6.).

Deoarece la nivelul fiecărui **ori** există două furci de replicare, pe ambele catene de ADN replicarea se va propaga atât continuu în direcția 5'→3', cât și discontinuu în direcția 3'→5' (figura VI.7.).

O particularitate esențială a replicării este fidelitatea acesteia. La asamblarea nucleotidelor, în timpul replicării, apar uneori greşeli de împerechere. Astfel, dacă pe catena copiată există adenina, iar pe catena replicată ar trebui să existe timina, în cursul replicării este posibilă introducerea citozinei, apărând o împerechere anormală A-C.

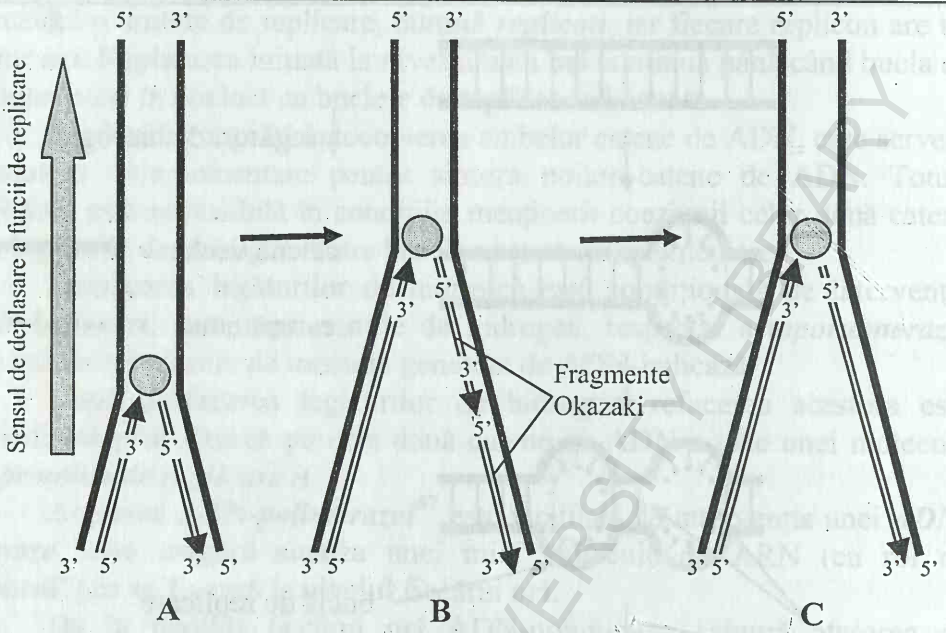


Figura VI.6. Replicarea catenelor de ADN

catena 5'→3' are replicare continuă; catena 3'→5' are replicare discontinuă A – formarea primului fragment Okazaki în prezența ADN-polimerazelor α şi δ, a ADN-primazei şi a unei molecule mici de ARN, cu rol de amorsă; B – formarea celui de-al doliea fragment Okazaki; C – unirea fragmentelor Okazaki în prezența ADN-ligazei

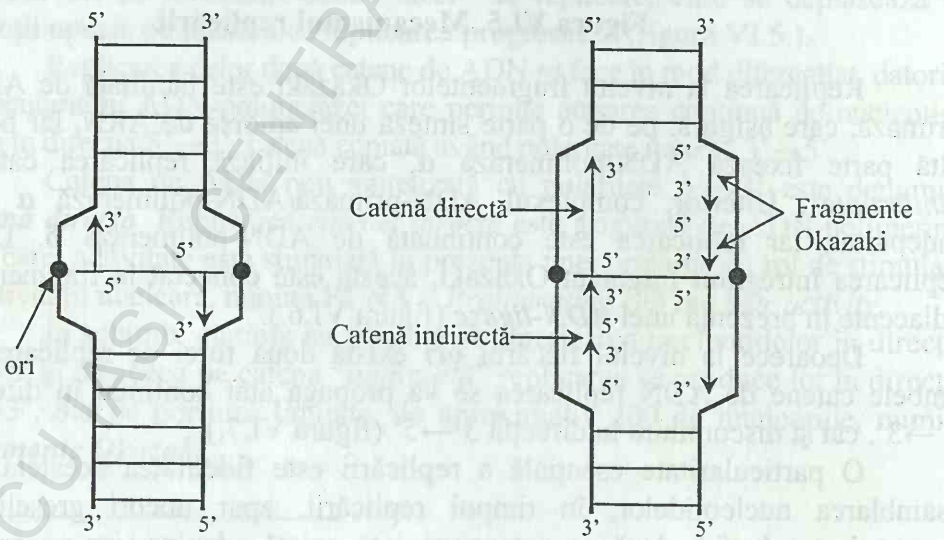


Figura VI.7. Progresia bidirecționată a replicării

Catena directă – replicare continuă în direcția 5'→3';
Catena indirectă – replicare discontinuă, dar tot în direcția 5'→3'

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Dacă eroarea nu este corectată, la următoarea replicare va apărea o pereche C-G, deoarece baza complementară citozinei este guanina. Astfel, apare o substituție punctiformă care poate determina sinteza unei proteine anormale.

Frecvența unor astfel de evenimente nu este foarte mare, deoarece în prezența unei împerecheri eronate structura secundară a ADN-ului este distorsionată, aspect recunoscut de ADN-polimerazele β sau ε, care au funcție exonucleazică. Sub acțiunea acestor enzime nucleotida incorect poziționată este îndepărtată, iar ADN-polimeraza δ poziționează nucleotida adecvată. În acest mod, probabilitatea de apariție a unor mutații punctiforme în cursul replicării se reduce de circa 1000 de ori. Totuși, chiar și în aceste condiții un număr important de mutații se produc în cursul replicării, impunând necesitatea existenței și a unui alt mecanism de control și corecție, numit ***repararea ADN-ului.***

VI.4. DIVIZIUNEA CELULEI

Diviziunea celulei reprezintă ansamblul de evenimente prin care se produce *multiplicarea celulară* și se asigură, prin intermediul cromosomilor, *transmiterea informației ereditare* în succesiunea generațiilor de celule sau organisme. Prin diviziune, materialul genetic se transmite:

- prin ***mitoză*** *de la o celulă somatică la celulele fiice*, rezultând celule identice cu celula de origine;
- *de la un organism adult la descendenți*, prin intermediul gameților haploizi, rezultați în urma ***meiozei.***

VI.4.1. MITOZA

Mitoza este diviziunea specifică celulelor somatice ale organismului. Ea asigură creșterea organismului, reînnoirea celulară și repararea unor leziuni tisulare. Prin mitoză, materialul genetic, dublat în interfază, se distribuie *total* și *egal* celulelor fiice. Mitoza este o diviziune ecuațională, deoarece cele două celule "fiice" au același număr de cromosomi ca și celula inițială. Deoarece în majoritatea cazurilor informația ereditară *se transmite cu fidelitate* în succesiunea generațiilor de celule, este asigurată *stabilitatea* proceselor ereditare.

Mitoza se desfășoară în cinci etape succesive: *profaza, prometafaza, metafaza, anafaza și telofaza* (figura VI.8.).

VI.4.1.1. Profaza

La începutul profazei, în nucleu filamentele fine de fibre de cromatină se *condensează*, scurtându-se și îngroșându-se și se transformă în ***cromosomi.*** Aceștia sunt bicromatidieni datorită replicării ADN în faza S. În regiunea ***centromerului,*** la sfârșitul profazei, se formează complexe de proteine cu rol

funcțional, numite ***kinetocori*** (figura VI.9.A) cu care cromosomul se va fixa pe filamentele fusului de diviziune. În citoplasmă, *centrosomul* (organit citoplasmatic perinuclear) se divide, iar cele două organite rezultate se deplasează în direcții opuse, formând polii *fusului de diviziune.* Ei sunt uniți prin filamente alcătuite din *microtubuli* (figura VI.9.B). În final, *nucleolii* se micşorează şi se dezintegrează.

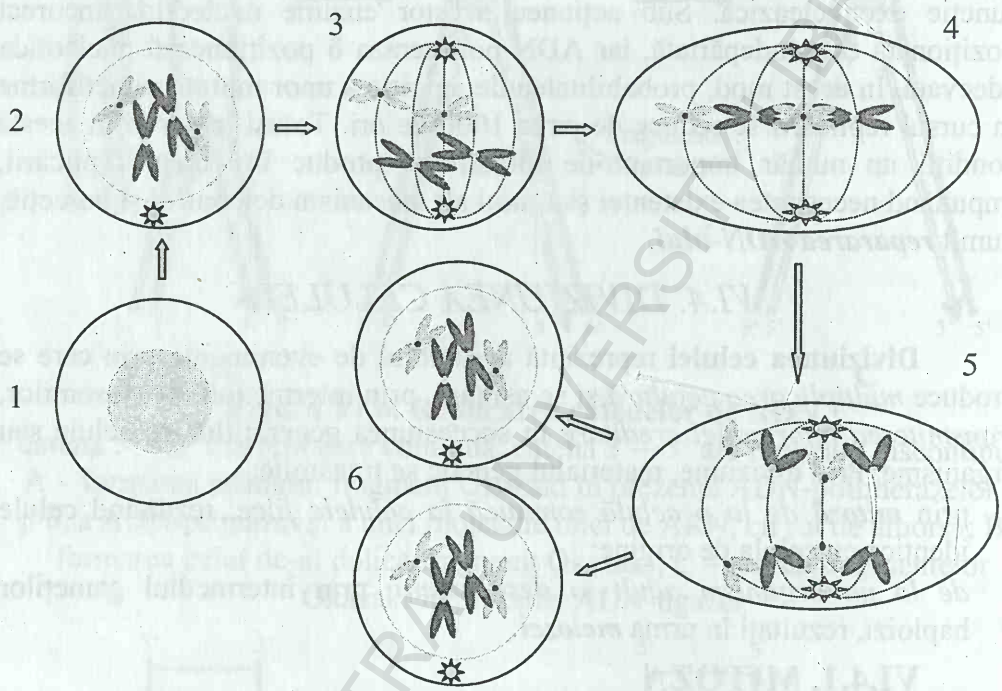


Figura VI.8. Fazele mitozei

Reprezentare diagramatică pentru o celulă cu două perechi de cromosomi:
1 – *Interfază; 2 - Profaza*; 3 - *Prometafaza*; 4 - *Metafaza*; 5 - *Anafaza*; 6 - *Telofaza*

VI.4.1.2. Prometafaza

Prometafaza, *stadiu intermediar* între profază şi metafază, este caracterizată prin: *fragmentarea* membranei nucleare, *ataşarea* cromosomilor (prin kinetocori) la filamentele fusului de diviziune şi *condensarea* cromosomilor.

VI.4.1.3. Metafaza

În metafază, cromosomii bicromatidieni îşi continuă *procesul de spiralizare şi condensare.* Ei migrează de-a lungul fibrelor fusului de diviziune spre ecuatorul fusului, unde se *aliniază* în acelaşi plan, formând *placa metafazică.*

VI.4.1.4. Anafaza

La începutul anafazei se produce *clivarea longitudinală a centromerului,* care asigură separarea celor două cromatide - ***disjuncție***

(separare) cromatidiană. Astfel, din fiecare cromosom bicromatidian se formează doi cromosomi monocromatidieni (figura VI.7.). Astfel, anafaza este principala etapă a mitozei din punct de vedere genetic, deoarece pe parcursul ei se produce împărțirea totală și egală a materialului genetic.

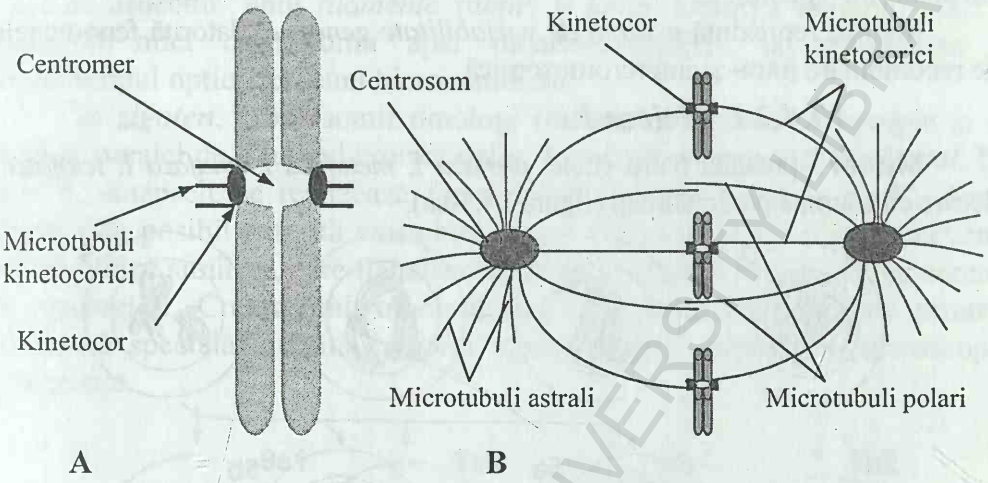


Figura VI.9. Microtubuli kinetocorici

A. Fixarea microtubulilor la cromosomul metafazic. B. Clase de microtubuli. Fusul mitotic

Metafaza este stadiul optim de studiu a cromosomilor, deoarece aceştia au grad maxim de condensare şi sunt dispuşi într-un singur plan.

După separare, cromosomii monocromatidieni sunt traşi spre polii fusului de diviziune prin contracția fibrelor kinetocorice[58]. Deplasarea cromosomilor spre poli se face *simultan, cu aceeaşi viteză.*

VI.4.1.5. Telofaza

Se caracterizează prin evenimente opuse celor din profază. Cromosomii suferă un proces de *decondensare* şi *despiralizare*, îşi pierd structura vizibilă la microscopul optic, devenind cromoneme subțiri, vizibile doar la microscopul electronic. Fusul de diviziune se dezasamblează, se reface membrana nucleară şi reapare nucleolul. Urmează, diviziunea citoplasmei (*citokineză*) iar în final, cele două celule fiice se separă, fiecare conținând 2n cromosomi monocromatidieni şi având aspect interfazic.

VI.4.2. MEIOZA

Meioza este un proces complex, care se desfăşoară în gonade (testiculi şi ovare) şi care constă din *două diviziuni succesive,* neseparate de interfază: meioza I (diviziune reducțională) şi meioza II (diviziune ecuațională).

[58] Funcția microtubulilor poate fi demonstrată prin tratament cu colchicină, care inhibă formarea lor şi împiedică aranjarea cromosomilor în plan ecuatorial,

BCU "LUCIAN BLAGA" CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Caracteristica principală a meiozei constă în *înjumătățirea numărului de cromosomi*, gameții haploizi rezultați conținând numai câte un cromosom din fiecare pereche (la om n = 23). În felul acesta, meioza, urmată de fecundare, contribuie la *menținerea constantă a numărului de cromosomi caracteristic speciei.*

Meioza reprezintă o *sursă de variabilitate genetică*, datorită fenomenelor de recombinare intra- şi intercromosomică.

VI.4.2.1. Meioza I

Meioza I prezintă patru etape: *profaza I, metafaza I, anafaza I, telofaza I,* fiecare cu anumite particularități (figura VI.10.a).

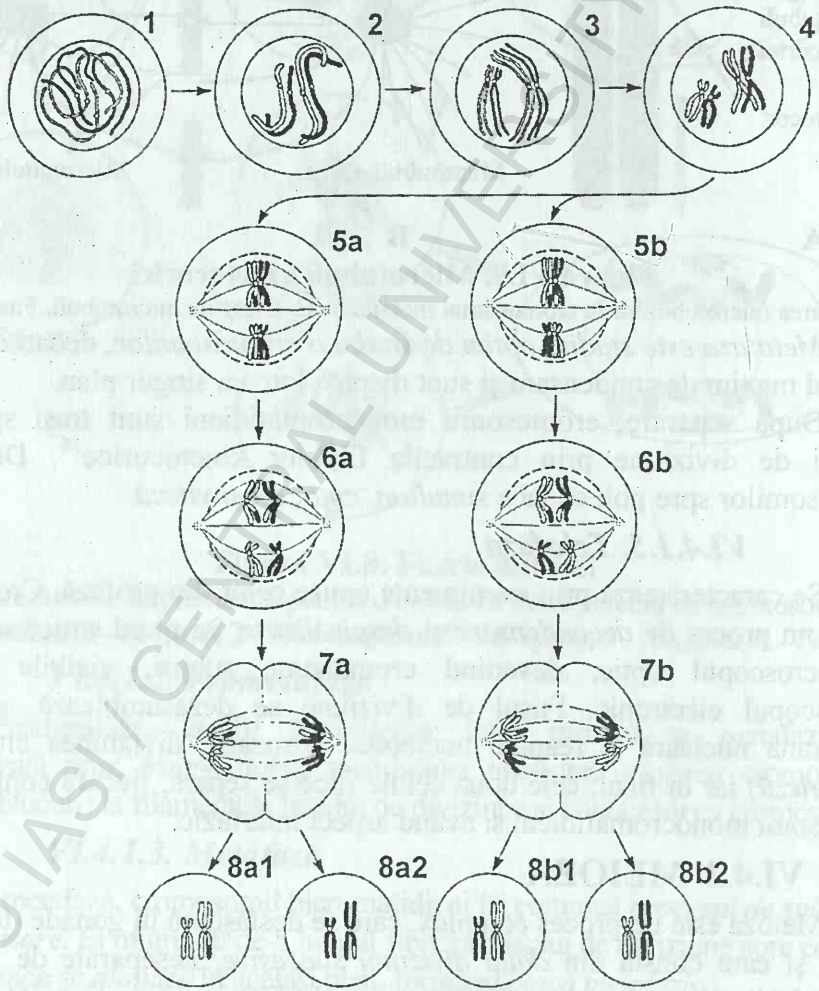


Figura VI.10.a. Fazele meiozei I –
Reprezentare diagramatică a două perechi de cromosomi şi a unui crossing-over 1-4 profaza; 5a, 5b posibilitățile de aranjare a celor două perechi de cromosomi în metafază; 6a, 6b anafaza; 7a, 7b telofaza; 8a1, 8a2, 8b1,8b2 combinațiile cromosomilor parentali.

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

VI.4. 2.1.1. Profaza I

Profaza I este foarte lungă şi cuprinde cinci stadii: leptoten, zigoten, pahiten, diploten şi diakineza.

În ***leptoten***, prin condensarea fibrelor de cromatină rezultă cromosomii care au aspectul unor *filamente subțiri şi lungi*. Datorită lungimii mari şi grosimii mici cromosomii apar monocromatidieni la examinarea la microscopul optic, deşi sunt bicromatidieni.

În ***zigoten***, cromosomii omologi (matern şi patern) se apropie şi se dispun paralel de-a lungul cromatidelor, formând *sinapsa* sau *bivalentul*. De obicei, sinapsele se realizează foarte exact; practic "genă la genă". Acest lucru este posibil datorită existenței pe cei doi cromosomi a unor secvențe nucleotidice similare, care flanchează genele şi asigură împerecherea corectă a omologilor. Cromosomii omologi sunt *uniți* în anumite regiuni printr-o structură specială, numită *complex sinaptonemal*, vizibilă la microscopul electronic.

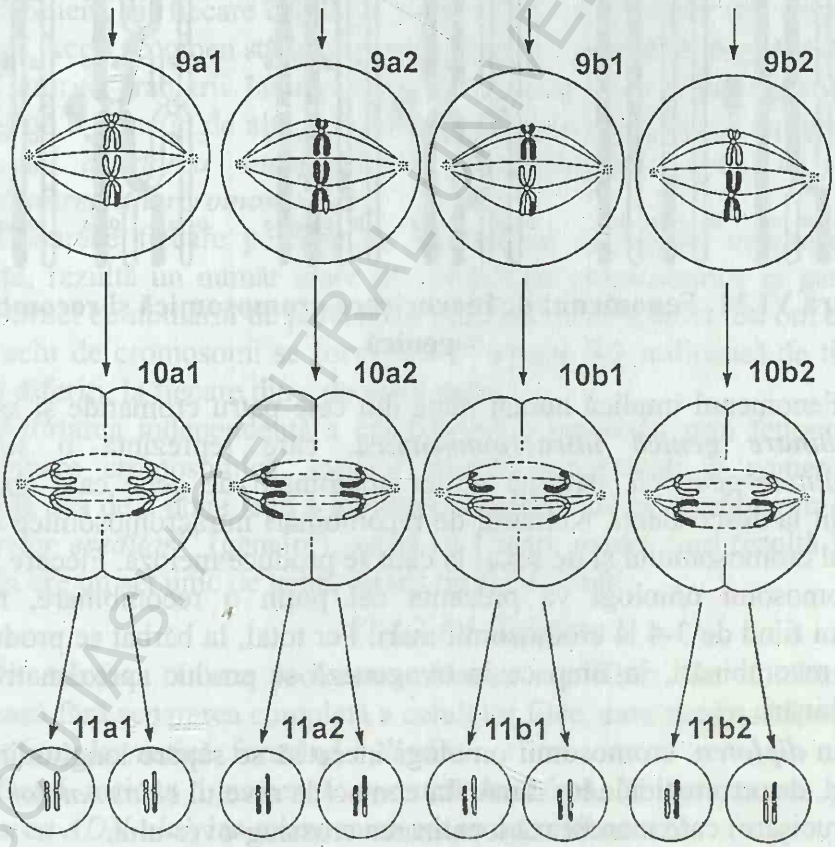


Figura VI.10.b. Fazele meiozei II

9a1, 9a2, 9b1,9b2 metafaza II; 10a1, 10a2, 10b1,10b2 anafaza II; 11a1, 11a2, 11b1, 11b2 cele 8 combinații cromosomice posibile în gameți.

BCU IAŞI - CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

O excepție de la acest model de sinapsă, apare la sexul masculin, deoarece cromosomii X şi Y nu sunt omologi. La bărbat, cromosomii sexuali formează o sinapsă specială – *vezicula sexuală* – datorită unirii "cap la cap" a brațelor scurte, la nivelul regiunilor omologe (regiune pseudoautosomală)

În ***pahiten***, cromosomii se scurtează şi se îngroaşă. De-a lungul cromosomilor pot fi evidențiate o serie de puncte mai colorate numite *cromomere*, a căror număr şi poziție sunt caracteristice fiecărui cromosom.

Pe parcursul pahitenului cromatidele nesurori ale cromosomilor omologi se ***încrucişează***, după care se produc rupturi cromosomice la nivelul punctelor de încrucişare, iar cromosomii omologi fac schimb reciproc de *fragmente egale* - ***crossing-over***. Astfel, un fragment de cromatidă de pe un cromosom matern se transferă pe omologul său patern şi invers, realizând *o nouă combinație genică* (figura VI.11.).

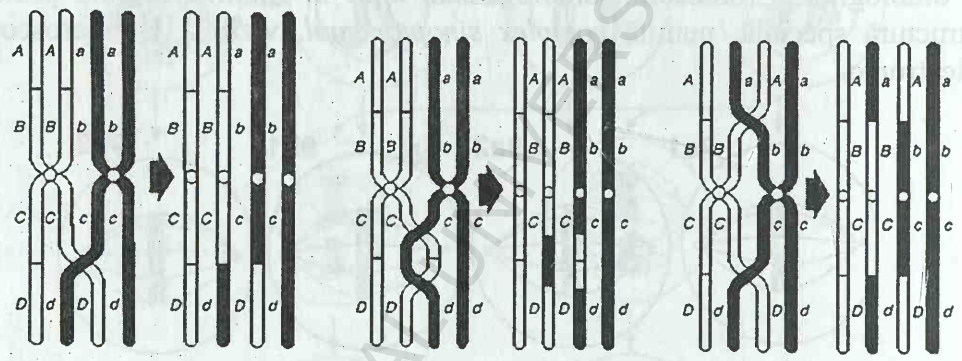


Figura VI.11. Fenomenul de încrucişare cromosomică şi recombinare genică

Fenomenul implică numai două din cele patru cromatide şi asigură o ***recombinare genică intracromosomică***, care reprezintă o *sursă de variabilitate genetică,* datorită noilor combinații de gene care apar şi se transmit la descendenți. Numărul de recombinări intracromosomice depinde de tipul cromosomului şi de sexul la care se produce meioza. Fiecare pereche de cromosomi omologi va prezenta cel puțin o recombinare, numărul acestora fiind de 3-4 la cromosomii mari. Per total, la bărbat se produc circa 50 de recombinări, în timp ce în ovogeneză se produc aproximativ 70 de recombinări.

În ***diploten***, cromosomii omologi încep să se separe longitudinal unul de altul, dar cromatidele lor rămân în contact la nivelul *chiasmatelor* (puncte de încrucişare) care marchează localizarea crossing-over-ului.

În ***diakineză***, cromosomii devin mai scurți şi mai groşi, iar omologii se separă aproape complet, chiasmatele fiind evidente numai la capetele lor. În această fază se observă că fiecare bivalent conține patru elemente:

cromatidele surori sunt unite prin centromer, iar cromatidele nesurori sunt unite prin chiasmatele la nivelul cărora s-a produs crossing-over-ul.

VI.4.2.1.2. Metafaza I

În metafaza I, membrana nucleară dispare şi se formează fusul de diviziune. Bivalenții, formați din cromosomi bicromatidieni, se fixează cu centromerul pe fus şi migrează la ecuatorul celulei, formând *placa metafazică.*

VI.4.2.1.3. Anafaza I

În anafaza I se produce un fenomen genetic important: ***disjuncția cromosomilor.*** Cei doi cromosomi bicromatidieni ai unui bivalent *se separă* şi vor ajunge în celule diferite. Cromosomii rămân bicromatidieni, deoarece *cromatidele surori nu se despart,* ci rămân ataşate la nivelul centromerului.

După separare, cromosomii aceiaşi perechi, migrează simultan şi cu aceeaşi viteză, spre polii opuşi ai celulei. La sfârşitul anafazei I, la fiecare pol al fusului de diviziune va exista câte un grup format din **n** cromosomi bicromatidieni, iar fiecare celulă va avea numai un exemplar din perechea de omologi. Acest fenomen stă la baza primei legi a lui Mendel, *legea segregării.*

Datorită aranjării întâmplătoare a cromosomilor omologi ai fiecărei perechi de o parte şi de alta a fusului de diviziune, separarea cromosomilor determină *asortarea independentă a omologilor*, ceea ce asigură ***recombinarea intercromosomică.***

Deoarece fiecare pereche de cromosomi *se separă independent* de celelalte, rezultă un număr mare de combinații cromosomice în gameți, în raport direct cu numărul de perechi de cromosomi ai speciei. La om existând 23 perechi de cromosomi se formează 2^{23} (peste 8,3 milioane) de tipuri de gameți diferiți, la fiecare din cele două sexe.

Asortarea independentă a cromosomilor omologi, prin fenomenul de recombinare cromosomică, *explică marea variabilitate a gameților.* Ea confirmă cea de a doua lege a lui Mendel referitoare la *combinarea liberă a "factorilor ereditari"* (genelor), astfel că fiecare gamet care rezultă în urma meiozei are un set unic de gene, diferit de al celorlalți.

VI.4.2.1.4. Telofaza I

În telofaza I are loc reasamblarea nucleilor; dar citokineza se realizează fără separarea completă a celulelor fiice, care rămân ataşate printr-o punte citoplasmatică, formând o *diadă.*

După meioza I urmează o scurtă interfază, în care nu se produce *replicarea ADN-ului*, iar cromosomii nu se decondensează.

VI.4.2.2. Meioza II

Se aseamănă cu mitoza, fiind o *diviziune ecuațională,* dar se realizează în celule cu număr haploid de cromosomi. Meioza II cuprinde patru stadii:

profaza II, metafaza II, anafaza II şi telofaza II (figura VI.10.b.).

Pe parcursul anafazei II, prin clivarea longitudinală a centromerelor, fiecare cromosom se separă în două cromatide- *disjuncţie cromatidiană* – care se deplasează în direcţii opuse, concomitent şi cu aceeaşi viteză.

În urma meiozei II, din cele două celule fiice formate în meioza I rezultă *patru celule haploide*, care prin maturare se transformă în gameţi fecundabili. *Gameţii rezultaţi nu sunt identici*, fiecare are o altă combinaţie de gene datorită fenomenelor de recombinare intra- şi intercromosomică.

VI.4.2.3. Particularităţile meiozei la bărbat şi femeie

La cele două sexe, meioza prezintă o serie de particularităţi, legate de cronologia, desfăşurarea şi finalitatea ei. La bărbat se formează în final patru spermatozoizi, în timp ce la femeie, prin eliminarea globulilor polari, rezultă doar un singur ovul (figura VI.12.).

Meioza masculină are următoarele particularităţi:

- debutează la pubertate şi continuă întreaga viaţă;
- dintr-o spermatogonie, prin diviziunile meiotice, rezultă patru spermatozoizi funcţionali;
- jumătate dintre spermatozoizi au cromosom X, iar cealaltă jumătate au cromosomi Y;
- este un proces rapid, durata sa fiind de 75 zile;
- este un proces intens, 1 ml de spermă conţinând circa 20 de milioane de spermatozoizi;
- este un proces autoreglabil, care odată început se autoîntreţine;
- meioza masculină este sensibilă la acţiunea factorilor de mediu (căldură);
- în meioza masculină există un risc scăzut de apariţie al erorilor de distribuţie a materialului genetic, deoarece procesul este scurt. În schimb, odată cu creşterea vârstei, bărbaţii au un risc crescut de a avea copii cu afecţiuni monogenice, deoarece o mutaţie apărută este copiată neîntrerupt.

Meioza feminină se caracterizează prin următoarele aspecte:

- este un proces care debutează prenatal (luna a III-a de viaţă intrauterină) după care se blochează în luna a VII-a prenatal, perioadă în care toate ovocitele I sunt deja formate;
- procesul este reluat la pubertate şi decurge ciclic, în fiecare lună eliberându-se câte unul sau maximum două ovocite de ordin II, care vor fi eliberate în trompa uterină; ovocitul de ordin II începe meioza II, dar acest proces se încheie doar dacă se produce fecundarea;
- se opreşte definitiv la menopauză;
- în cazul meiozei feminine dintr-o ovogonie, prin cele două diviziuni meiotice, rezultă o singură celulă funcţională (ovulul) care conţine aproape întreaga citoplasmă a celulei iniţiale şi doi globuli polari (celule

nefuncționale);

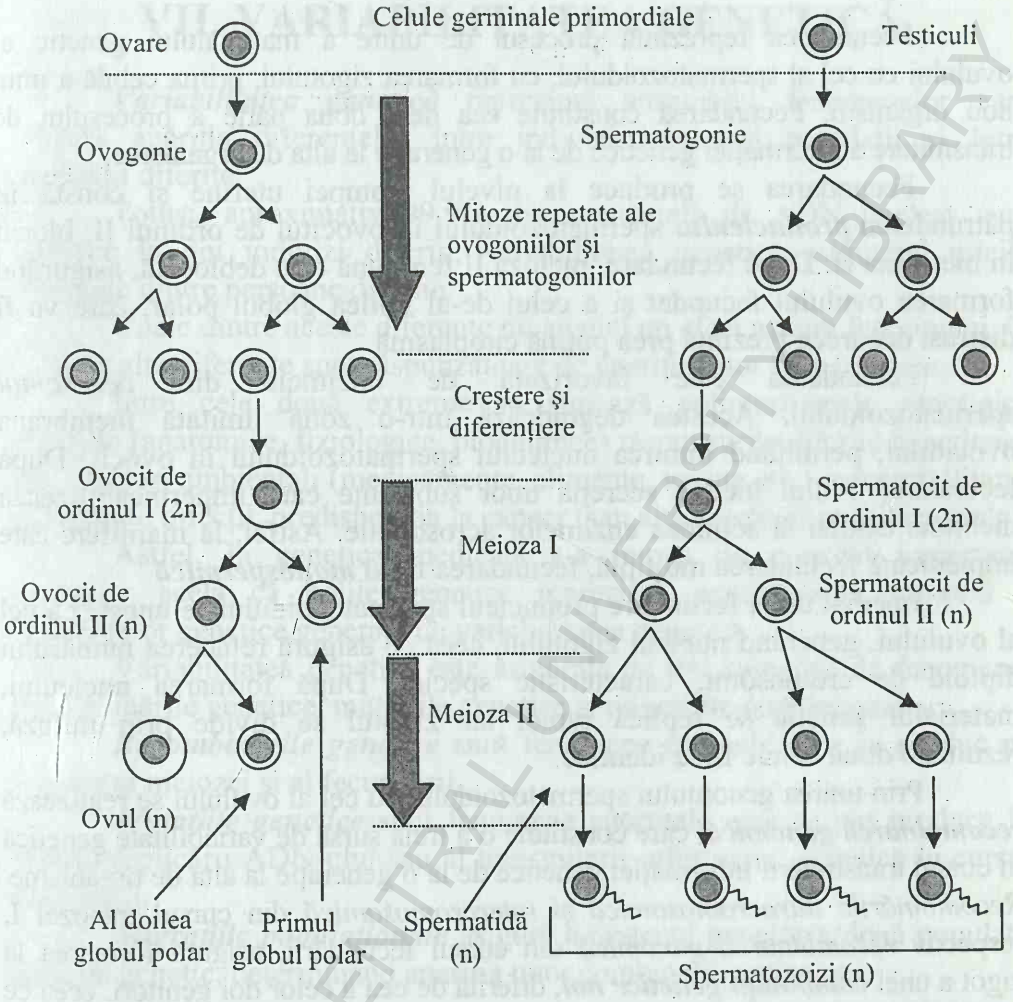


Figura VI.12. Schema meiozei feminine (stânga) și masculine (dreapta)

- toate ovulele au același gonosom: X;
- meioza feminină este un proces lent, ce durează între 10 și 50 de ani;
- meioza feminină este un proces puțin intens, în fiecare lună maturându-se maximum câțiva foliculi ovarieni;
- meioza feminină este un proces reglat hormonal de nivelul de FSH și LH;
- creșterea vârstei materne favorizează accidentele de distribuție a materialului genetic în meioză, care duc la descendenți cu anomalii cromosomice numerice omogene, deoarece ovocitele I rămân blocate o perioadă lungă în dichtioten. În schimb, probabilitatea de apariție a mutațiilor genice este redusă, deoarece pe parcursul întregii perioade reproductive se maturează doare câteva sute de ovocite.

ROMANIAN CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

profaza II, metafaza II, anafaza II şi telofaza II (figura VI.10.b.).

Pe parcursul anafazei II, prin clivarea longitudinală a centromerelor, fiecare cromosom se separă în două cromatide- *disjuncţie cromatidiană* – care se deplasează în direcţii opuse, concomitent şi cu aceeaşi viteză.

În urma meiozei II, din cele două celule fiice formate în meioza I rezultă *patru celule haploide*, care prin maturare se transformă în gameţi fecundabili. *Gameţii rezultaţi nu sunt identici*, fiecare are o altă combinaţie de gene datorită fenomenelor de recombinare intra- şi intercromosomică.

VI.4.2.3. Particularităţile meiozei la bărbat şi femeie

La cele două sexe, meioza prezintă o serie de particularităţi, legate de cronologia, desfăşurarea şi finalitatea ei. La bărbat se formează în final patru spermatozoizi, în timp ce la femeie, prin eliminarea globulilor polari, rezultă doar un singur ovul (figura VI.12.).

Meioza masculină are următoarele particularităţi:

- debutează la pubertate şi continuă întreaga viaţă;
- dintr-o spermatogonie, prin diviziunile meiotice, rezultă patru spermatozoizi funcţionali;
- jumătate dintre spermatozoizi au cromosom X, iar cealaltă jumătate au cromosomi Y;
- este un proces rapid, durata sa fiind de 75 zile;
- este un proces intens, 1 ml de spermă conţinând circa 20 de milioane de spermatozoizi;
- este un proces autoreglabil, care odată început se autoîntreţine;
- meioza masculină este sensibilă la acţiunea factorilor de mediu (căldură);
- în meioza masculină există un risc scăzut de apariţie al erorilor de distribuţie a materialului genetic, deoarece procesul este scurt. În schimb, odată cu creşterea vârstei, bărbaţii au un risc crescut de a avea copii cu afecţiuni monogenice, deoarece o mutaţie apărută este copiată neîntrerupt.

Meioza feminină se caracterizează prin următoarele aspecte:

- este un proces care debutează prenatal (luna a III-a de viaţă intrauterină) după care se blochează în luna a VII-a prenatal, perioadă în care toate ovocitele I sunt deja formate;
- procesul este reluat la pubertate şi decurge ciclic, în fiecare lună eliberându-se câte unul sau maximum două ovocite de ordin II, care vor fi eliberate în trompa uterină; ovocitul de ordin II începe meioza II, dar acest proces se încheie doar dacă se produce fecundarea;
- se opreşte definitiv la menopauză;
- în cazul meiozei feminine dintr-o ovogonie, prin cele două diviziuni meiotice, rezultă o singură celulă funcţională (ovulul) care conţine aproape întreaga citoplasmă a celulei iniţiale şi doi globuli polari (celule

nefuncționale);

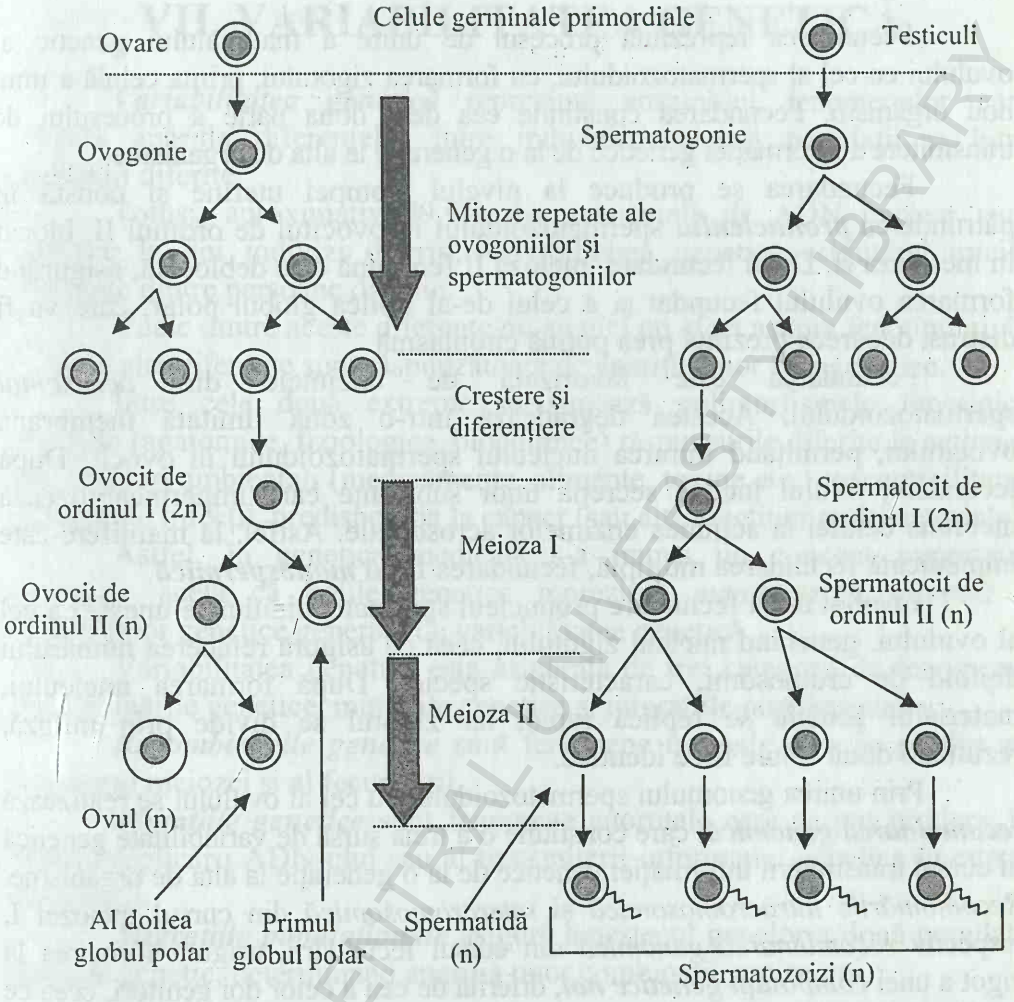


Figura VI.12. Schema meiozei feminine (stânga) și masculine (dreapta)

- toate ovulele au același gonosom: X;
- meioza feminină este un proces lent, ce durează între 10 și 50 de ani;
- meioza feminină este un proces puțin intens, în fiecare lună maturându-se maximum câțiva foliculi ovarieni;
- meioza feminină este un proces reglat hormonal de nivelul de FSH și LH;
- creșterea vârstei materne favorizează accidentele de distribuție a materialului genetic în meioză, care duc la descendenți cu anomalii cromosomice numerice omogene, deoarece ovocitele I rămân blocate o perioadă lungă în dichtioten. În schimb, probabilitatea de apariție a mutațiilor genice este redusă, deoarece pe parcursul întregii perioade reproductive se maturează doare câteva sute de ovocite.

POLITA CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

VI.5. FECUNDAREA

Fecundarea reprezintă procesul de unire a materialului genetic al ovulului cu cel al spermatozoidului, cu formarea zigotului, prima celulă a unui nou organism. Fecundarea constituie cea de-a doua parte a procesului de transmitere a informaţiei genetice de la o generaţie la alta de organisme.

Fecundarea se produce la nivelul trompei uterine şi constă în pătrunderea ***pronucleului*** spermatozoidului în ovocitul de ordinul II, blocat în metafaza II. După fecundare, meioza II feminină este deblocată, asigurând formarea ovulului fecundat şi a celui de-al doilea globul polar, care va fi distrus, deoarece prezintă prea puţină citoplasmă

Fecundarea este favorizată de enzimele din *acrosomul* spermatozoidului. Acestea degradează într-o zonă limitată membrana ovocitului, permiţând intrarea nucleului spermatozoidului în ovocit. După fecundare, ovulul începe secreţia unor substanţe care impermeabilizează mebrana celulei la acţiunea enzimelor acrosomale. Astfel, la mamifere este împiedicată fecundarea multiplă, fecundarea fiind ***monospermică***.

Imediat după fecundare pronucleul spermatozoidului se uneşte cu cel al ovulului, generând nucleul zigotului, ceea ce asigură refacerea numărului diploid de cromosomi, caracteristic speciei. După formarea nucleului, materialul genetic se replică rapid, iar zigotul se divide prin mitoză, rezultând două celule fiice identice.

Prin unirea genomului spermatozoidului cu cel al ovulului se realizează ***recombinarea genomică***, care constituie o a treia sursă de variabilitate genetică în cursul transmiterii informaţiei genetice de la o generaţie la alta de organisme. *Recombinările intracromosomică* şi *intercromosomică* din cursul meiozei I, respectiv *recombinarea genomică* din cursul fecundării, asigură formarea la zigot a unei ***combinaţii genetice noi***, diferită de cea a celor doi genitori, ceea ce conferă ***unicitatea*** noului organism.

În momentul fecundării, dependent de gonosomul prezent în spermatozoid, se formează ***sexul genetic*** al viitorului copil prin asocierea gonosomului ovulului cu cel al spermatozoidului.

În funcţie de sexul genetic, XX sau XY, se va produce sexualizarea feminină, respectiv masculină a embrionului.

Deşi organismul posedă mecanisme de protecţie împotriva erorilor de fecundare, uneori se pot produce unele anomalii. O astfel de eroare o reprezintă ***dispermia***, care constă în fecundarea concomitentă a unui singur ovul normal de către doi spermatozoizi normali. În acest mod va rezulta un embrion triploid (3n=69 cromosomi) care este neviabil şi va fi eliminat prin avort spontan.

VII. VARIABILITATEA GENETICĂ

Variabilitatea genetică reprezintă ansamblul fenomenelor care asigură apariția diferențelor între indivizii aceleiași populații și între populații diferite.

Totuși, aproximativ 99,9% din secvențele de ADN nuclear sunt identice la doi indivizi diferiți, variabilitatea genetică asigurând micile diferențe dintre persoane diferite.

Unele dintre aceste diferențe nu au nici un efect asupra fenotipului, în timp ce alte diferențe sunt răspunzătoare de apariția unor boli genetice.

Între cele două extreme se situează polimorfismele fenotipice normale (anatomice, fiziologice, biochimice) răspunsurile diferite la acțiunea unor factori ambientali (medicamente, alimente, toxine etc.) susceptibilitatea la anumite infecții, predispoziția la cancer (sau alte afecțiuni multifactoriale).

Astfel, în genetica medicală s-a impus un concept important, respectiv acela că bolile genetice reprezintă *manifestarea extremă* a diferențelor genetice generate de variabilitatea genetică.

Variabilitatea genetică este asigurată de trei categorii de fenomene: recombinările genetice, mutațiile genetice și migrațiile populaționale.

Recombinările genetice sunt fenomene normale care se produc pe parcursul meiozei și al fecundării.

Mutațiile genetice sunt fenomene anormale care se pot produce în timpul replicării ADN-ului sau al transmiterii informației genetice în cursul diviziunii.

Migrațiile populaționale asigură amestecul genelor a două populații diferite genetic, determinând apariția unor combinații genice noi.

VII.1. RECOMBINAREA GENETICĂ

VII.1.1. RECOMBINAREA MEIOTICĂ

Pe parcursul meiozei, mai precis în cursul meiozei I, se produc două fenomene recombinatorii: recombinarea intracromosomică și recombinarea intercromosomică.

VII.1.1.1. Recombinarea intracromosomică

Recombinarea intracromosomică are loc în cursul *pahitenului* (profaza I) și este consecința fenomenului de ***crossing-over***. Acest tip de recombinare este asigurat de *schimbul egal și reciproc* de fragmente între cromosomii omologi.

BCU "CAROL I" CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

În cursul *zigotenului* cromosomii omologi se aliniază de-a lungul cromatidelor, formând sinapsa. La nivelul acesteia, între cromatidele nesurori ale cromosomilor omologi se produc încrucişări. La nivelul punctelor de încrucişare, numite *chiasmate*, în cursul pahitenului se produc rupturi cromosomice, urmate de schimbul de material genetic între cromosomii omologi, ceea ce constituie crossing-over-ul (figura VII.1).

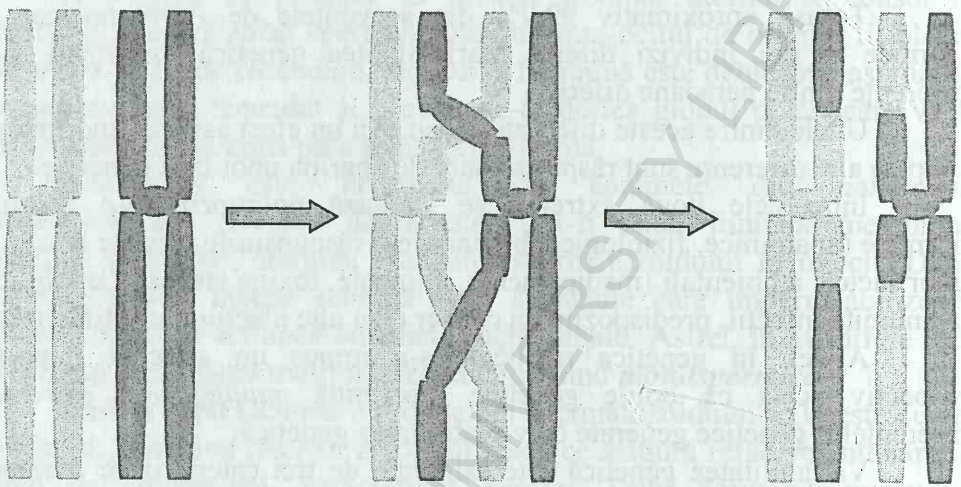


Figura VII.1. Fenomenele de încrucişare cromosomică şi recombinare intracromosomică (crossing-over)

Datorită recombinării intracromosomice, la sfârşitul profazei I, fiecare cromosom va avea segmente de origine maternă şi segmente de origine paternă.

Numărul de recombinări intracromosomice depinde de *dimensiunea cromosomului* şi *sex*. Numărul de crossing-over-uri este cu atât mai mare cu cât cromosomul este mai lung. Astfel, la nivelul cromosomilor mari se pot produce şi 5-6 recombinări. Totuşi, indiferent de dimensiunea cromosomului fiecare pereche cromosomică are cel puţin o recombinare intracromosomică. Numărul normal de recombinări intracromosomice este mai mare în ovogeneză (în medie 70-75 de recombinări per celulă) decât în spermatogeneză (aproximativ 40-45 de recombinări per celulă).

Scăderea numărului de astfel de recombinări în ovogeneză este corelat cu o predispoziţie la nedisjuncţie cromosomică în cursul anafazei I, răspunzătoare de riscul crescut al femeilor cu vârstă crescută de a avea descendenţi cu aneuploidii omogene.

Alinierea corectă a cromosomilor la nivelul sinapselor este favorizată de existenţa pe ambii cromosomi ai unei perechi a unor secvenţe nucleotidice de recunoaştere omologe. Datorită similitudinii acestor secvenţe

devine posibilă o aliniere incorectă, ce determină un crossing-over inegal. Astfel, pot rezulta deleții sau duplicații ale unor gene[59].

VII.1.1.2. Recombinarea intercromosomică

Recombinarea intercromosomică se produce în anafaza meiozei I. La nivelul plăcii metafazice, cromosomii fiecărui bivalent se aranjează de o parte şi de alta a ecuatorului fusului de diviziune. Deoarece cromosomii diferiților bivalenți se orientează aleatoriu de o parte şi de alta a ecuatorului fusului de diviziune, se produce o *asortare întâmplătoare* a cromosomilor omologi din perechi diferite. Astfel, după disjuncția şi migrarea cromosomică la fiecare pol al fusului de diviziune vor exista grupuri cromosomice alcătuite dintr-un amestec de cromosomi de origine maternă şi paternă.

Numărul posibil de recombinări este de 2^{23} (mai mult de 8 milioane de variante). De fapt nivelul recombinării meiotice este mult mai mare, deoarece fiecare cromosom a suferit cel puțin un crossing-over.

Datorită celor două procese de recombinare meiotică, gameții sunt diferiți din punct de vedere genetic, iar fiecare cromosom al unui gamet conține un amestec de fragmente de origine maternă şi fragmente de origine paternă.

VII.1.2. RECOMBINAREA GENOMICĂ

Recombinarea genomică se produce în cursul fecundării ovulului de către spermatozoid. Ea este rezultatul combinării materialului genetic al celor doi gameți, prin care rezultă zigotul, a cărui formulă genetică este diferită, atât de cea a mamei, cât şi de cea a tatălui.

Datorită recombinărilor genetice produse în cursul meiozei şi fecundării, fiecare individ ***este unic şi irepetabil*** din punct de vedere genetic. Singurele excepții există în cazul gemenilor monozigoți, care provenind din aceeaşi celulă au aceeaşi informație genetică.

Dacă sunt luați în considerare şi factorii ambientali şi cei socio-economici, devine evident că fiecare dintre noi reprezintă un unicat.

VII.2. POLIMORFISMUL GENETIC

Polimorfismul genetic, caracterizat prin diferențele genetice existente între diverşi indivizi ai unei populații, este consecința acumulării, pe parcursul evoluției speciei a unui număr impresionant de mutații. În majoritatea cazurilor polimorfismul este consecința unor mutații la nivelul regiunilor intergenice sau în segmentele necodante ale unei gene (introni, secvențe netranscrise). Polimorfismul genetic se manifestă prin: diferențele de colorare a cromosomilor (polimorfismul de bandare) existența unor diverse variante

[59] Vezi capitolul **Gena - unitate de structură, funcție şi mutație**

proteice şi enzimatice, prezenţa unor modificări nucleotidice la nivelul secvenţelor de ADN (polimorfismul mononucleotidic) şi nu în ultimul rând prin numeroasele boli determinate genetic sau condiţionate genetic.

Totuşi, deşi există un real polimorfism genetic, secvenţele de ADN, în special cele codante, au fost în mare parte conservate de-a lungul evoluţiei speciei. Astfel, dacă luăm în considerare orice secvenţă de ADN de 1kb, în majoritatea cazurilor diferenţele la nivelul acesteia între doi indivizi diferiţi se rezumă doar la o singură pereche de baze.

VII.2.1. POLIMORFISMUL PROTEIC ŞI ENZIMATIC

Majoritatea proteinelor şi enzimelor umane prezintă un polimorfism mai mult sau mai puţin marcat. La ora actuală se consideră că există un ***polimorfism genetic*** în condiţiile în care alela care codifică o anumită variantă proteică este prezentă în populaţie într-o frecvenţă mai mare de 1%. Convenţional, alelele care sunt prezente cu o frecvenţă mai mică de 1% sunt considerate ***variante alelice rare***. Majoritatea genelor mutante care determină boli monogenice fac parte din categoria variantelor alelice rare.

În cazul caracterelor fenotipice normale, evidenţierea polimorfismului genetic se face prin analiza proteinei respective şi nu a secvenţei de ADN codante. Această abordare este normală în condiţiile în care produsul funcţional al unei alele este responsabil de diferenţele fenotipice şi nu de secvenţa de ADN *per se*.

Polimorfismul fenotipic normal este amplu, deoarece fiecare individ este heterozigot, în medie, la nivelul a 20% dintre locii genici. Ţinând cont că la nivel biochimic, proteinele şi enzimele codificate de diferite gene sunt intercondiţionate, este clar că conceptul de ***individualitate biochimică*** constituie o realitate.

VII.2.1.1. Polimorfismul grupelor sanguine AB0

Grupele sanguine ABO se caracterizează prin: prezenţa pe suprafaţa eritrocitelor a trei tipuri majore de *antigene* (*aglutinogene*) denumite A, B şi H şi prezenţa în ser a unor *anticorpi* specifici (*aglutinine*) anti-A, anti-B şi anti-H (tabelul VII.1.)

Prezenţa pe hematii a unui antigen exclude automat prezenţa în ser a aglutininei corespunzătoare, deoarece între cele două molecule s-ar produce o reacţie imunologică, soldată cu aglutinarea şi liza hematiilor.

Antigenele A, B şi H sunt de tip oligozaharidic, fiind asociate unor glicolipide transmembranare.

Determinismul genetic al sistemului ABO este relativ complex. ***Genele*** implicate în sistemul ABO sunt reprezentate de ***alelele existente la nivelul a doi loci genetici distincţi.***

Tabelul VII.1. Relațiile dintre antigene și anticorpi la fenotipurile AB0

Grupa sanguină	Antigene pe hematii (Ag)	Aglutinine în ser (Ac)	Frecvența grupelor AB0 în România
0	H	anti-A (alfa) anti-B (beta)	32,68%
A	A, H	anti-B(beta)	43,15%
B	B, H	anti-A (alfa)	16,50%
AB	A, B, H	-	7,65%

Primul locus, ***locusul H***, poate fi ocupat alternativ de alelele H (dominantă) și h (recesivă), iar ***locusul AB0*** propriu-zis, poate fi ocupat alternativ de 4 variante A_1, A_2, B sau 0 (polialelie). Gena A_1 este dominantă față de gena A_2, amândouă sunt codominante în raport cu gena B și toate trei sunt dominante față de gena 0. Genele 0 și h sunt *amorfe* (nu au produs primar detectabil) fiind recesive față de celelalte alele.

$$H > h$$
$$[(A_1 > A_2) = B] > 0$$

Între cele două grupe de alele AB0 și Hh există o **relație de epistazie**. Prezența alelei H este indispensabilă exprimării genelor A, B și 0. Epistazia este rezultatul faptului că formarea antigenelor A sau B necesită două reacții succesive de glicozilare[60]. Astfel, grupa sanguină AB0, este un caracter monogenic, autosomal, pur ereditar (care se transmite de la părinți la descendenți conform legilor lui Mendel), polialelic (polimorfic), determinat de asocierea a câte două din cele patru variante alelice (A_1, A_2, B, 0), cu zece genotipuri și șase fenotipuri posibile (grupe) A_1, A_2, B, 0, A_1B, și A_2B care decurg din interelațiile alelice existente (tabelul VII.2.).

Dacă ținem cont și de genele H și h, prin metode serologice (reacții antigen - anticorp), pot fi identificate *7 **fenotipuri majore*** în sistemul AB0: ***A_1, A_2, B, A_1B, A_2B, 0*** și ***Bombay.***

Dacă antigenele A, B sau H sunt caractere determinate genetic, ***anticorpii anti-A, anti-B sau anti-H*** reprezintă probabil răspunsul imun ca urmare a expunerii postnatale a individului la antigene oligozaharidice microbiene similare sau identice structural cu antigenele de grup sanguin. Astfel, individul elaborează în copilărie anticorpi IgM doar împotriva determinanților oligozaharidici AB0, care nu se găsesc pe celulele proprii.

[60] Vezi capitolul **Gena - unitate de structură, funcție și mutație**

Tabelul VII.2. Relaţia genotip-fenotip în sistemul sanguin ABO

Fenotip	Genotip			
	locusul AB0		locusul H	
	homozigot	heterozigot	homozigot	heterozigot
A_1	A_1A_1	A_1A_2, A_10	HH	Hh
A_2	A_2A_2	A_20	HH	Hh
B	BB	B0	HH	Hh
A_1B	-	A_1B	HH	Hh
A_2B	-	A_2B	HH	Hh
0	00	-	HH	Hh
Bombay	Orice genotip AB0		hh	-

Cunoaşterea grupelor AB0 este esenţială pentru realizarea transfuziilor de sânge. Astfel, persoanele cu grup 0 sunt considerate donatori universali, deoarece pe hematii au doar antigenul H (slab imunogen). Pe de altă parte, persoanele A_1B şi A_2B sunt considerate primitori universali, deoarece au în ser doar anticorpi slabi de tip anti-H.

VII.2.1.2. Polimorfismul grupelor sanguine Rh

Grupul sanguin Rh se caracterizează prin prezenţa pe suprafaţa eritrocitelor a trei tipuri de *antigene* (*aglutinogene*) denumite C, D şi E. Antigenele Rh sunt de tip polipeptidic, reprezentând porţiuni dintr-o proteină transmembranară cu rol de canal ionic.

Determinismul genetic al antigenelor Rh este complex, fiind implicaţi ***2 loci genetici, D şi C/E***, situaţi foarte apropiat pe acelaşi cromosom, astfel că genele se transmit înlănţuit. Fiecare locus poate fi ocupat alternativ de mai multe alele, astfel că se pot constitui ***haplotipuri*** distincte, ce determină antigene specifice. Locusul D poate fi ocupat fie de alela D dominantă, care codifică antigenul D, fie de alela d recesivă, care este amorfă. Determinanţii antigenici C/c şi E/e constituie domenii distincte ale aceleaşi polipeptide, codificată de genele din locusul C/E.

Fiecare individ posedă 2 haplotipuri (cele mai frecvente fiind CDe/cde şi CDe/CDe) iar antigenele de pe hematii (fenotipul Rh) sunt determinate de ambele haplotipuri, pe baza interrelaţiei alelice la nivelul fiecărui locus (dominanţă-recesivitate pentru locusul D, codominanţă pentru locusul C/E). Deoarece antigenul D este mai imunogenic, ***fenotipurile Rh*** sunt definite în raport cu prezenţa sau absenţa acestuia:

- ***persoane Rh+*** care au antigen D pe hematii (85% dintre indivizi);
- ***persoane Rh-*** care nu au antigen D pe hematii (15% dintre indivizi).

Deşi în mod natural persoanele Rh negative nu au în ser anticorpi împotriva antigenelor D, ele pot forma aceşti anticorpi în urma imunizării cu hematii D. Această imunizare se poate produce prin: transfuzie de sânge sau transplant de organ de la un individ Rh+, respectiv la prima sarcină Rh+ la o femeie Rh-.

Incompatibilitatea feto-maternă în sistemul Rh poate cauza la copil ***boala hemolitică a nou-născutului***. Aceasta este consecința trecerii transplacentare a anticorpilor anti-D de la mamă la făt pe parcursul sarcinii.

Mecanismul patogenic implicat în boala hemolitică a nou-născutului este prezentat în figura VII.2.

		Tata Rh+ Dd	
		Gameți	
Mama Rh- dd	Gameți	D	D
	d	**Dd**	Dd
	d	**Dd**	Dd

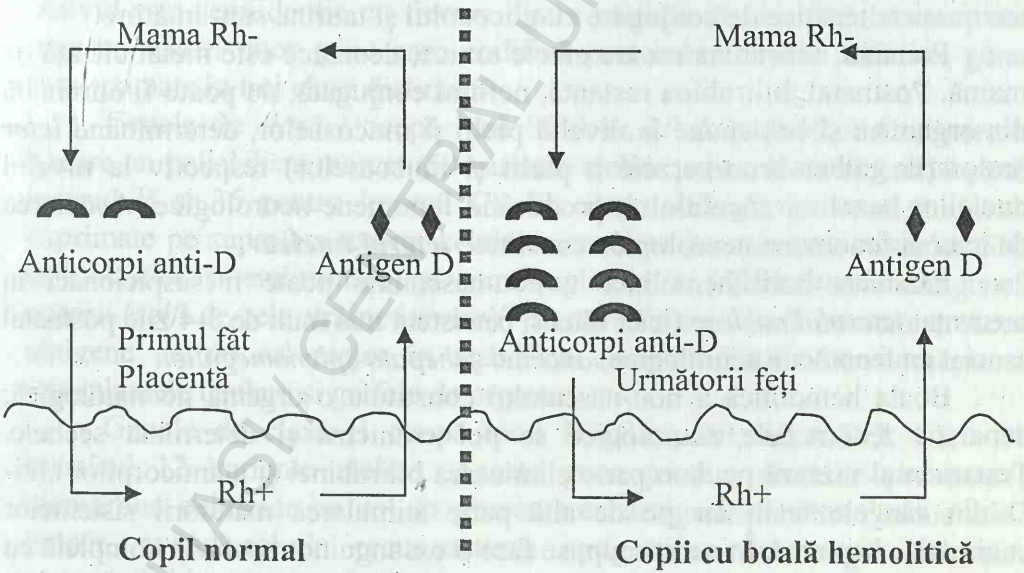


Figura VII.2. Mecanismul imunizării în sarcinile Rh+ la femei Rh-

La prima sarcină Rh+, în circulația maternă trec un număr mic de hematii fetale, purtătoare de antigen D. Cantitatea de antigen D, conținută de aceste eritrocite, este insuficientă pentru declanşarea reacției imune materne, astfel încât, în absența imunizării prealabile, la prima sarcină Rh+ copilul nu va fi afectat de boala hemolitică a nou-născutului.

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

În cursul naşterii sau avortului în circulaţia maternă pătrunde o cantitate însemnată de antigen D, suficientă pentru declanşarea sintezei de anticorpi anti-D. Aceştia se vor fixa pe hematiile fetale şi le vor distruge. În schimb, nu vor afecta fătul deoarece acesta a fost deja expulzat.

Informaţia despre existenţa antigenelor D va fi stocată în memoria limfocitelor B şi la următoarea sarcină Rh+, numărul redus de eritrocite fetale pătrunse în circulaţia maternă va fi suficient pentru declanşarea răspunsului imun.

Anticorpii anti-D sunt de tip IgG, au dimensiuni reduse şi pot trece de la mamă la făt prin bariera placentară. Ajunşi în circulaţia fetală ei se fixează pe antigenul D de pe hematii şi determină o reacţie antigen-anticorp finalizată prin hemoliză.

Distrugerea hematiilor fetale are trei efecte:

- apariţia unei stări de anemie;
- stimularea eritropoiezei fetale, ceea ce va produce o hiperplazie a organelor eritropoietice, concretizată prin apariţia hepato-splenomegaliei;
- eliberarea unei cantităţi crescute de bilirubină.

Bilirubina este toxică pentru făt şi nou-născut, deoarece sistemele enzimatice hepatice de conjugare cu glicocolul şi taurina sunt imature.

Prenatal, bilirubina nu are efecte toxice, deoarece este metabolizată de mamă. Postnatal, bilirubina restantă, nefiind conjugată, nu poate fi eliminată din organism şi se depune la nivelul pielii şi mucoaselor, determinând ***icter*** (colorația galben-brun-verzuie a pielii şi mucoaselor) respectiv la nivelul nucleilor bazali ai encefalului, producând fenomene neurologice. Asocierea de icter şi fenomene neurologice constituie ***icterul nuclear***.

Existenţa bolii hemolitice a nou-născutului poate fi suspicionată în prezenţa: *icterului nuclear* (icter intens, persistent mai mult de 3-4 zile postnatal asociat cu fenomene neurologice) *anemiei* şi *hepato-splenomegaliei*.

Boala hemolitică a nou-născutului constituie o urgenţă neonatologică, deoarece fenomenele neurologice se pot croniciza şi determină sechele. Tratamentul vizează pe de o parte eliminarea bilirubinei şi a anticorpilor anti-D din sângele fetal, iar pe de altă parte stimularea maturării sistemelor enzimatice hepatice. În acest scop, se face o exsanguinotransfuzie completă cu sânge izogrup AB0 şi Rh şi se administrează timp de 10-14 zile fenobarbital, care acţionează ca inductor enzimatic.

Profilaxia bolii hemolitice a nou-născutului poate fi primară sau secundară. Profilaxia primară se face la femeile Rh- neimunizate şi constă în administrarea de anticorpi anti-D cu 2-3 zile înaintea naşterii. Astfel, în momentul naşterii antigenele fetale pătrunse în circulaţia maternă vor fi distruse de anticorpii administraţi, fiind blocată reacţia imună maternă. În

acest mod, la următoarea sarcină Rh+, femeia Rh- va fi practic neimunizată.

Profilaxia secundară se adresează femeilor Rh- imunizate cu antigen D şi constă în administrarea periodică, pe parcursul sarcinii, de antigene D, care vor fixa anticorpii anti-D produşi de mamă, reducând astfel titrul anticoprilor ce ajung în circulaţia fetală.

Totuşi, accidentele de incompatibilitate materno-fetală în sistemul Rh se produc rar datorită reducerii imunizării materne în situaţia în care mama şi fătul sunt incompatibili şi în sistemul AB0 (hematiile fetale trecute în circulaţia maternă sunt distruse în acest caz imediat de aglutininele AB0).

VII.2.1.3. Polimorfismul grupelor tisulare

Grupele tisulare sunt reprezentate de proteine cu rol structural, incluse în membrana celulară, dar care prezintă şi antigenitate specifică. Cel mai important sistem tisular este sistemul **HLA** ("*Human Leucocyte Antigen*"). Acesta este un sistem multigenic, multifuncţional, cu rol major în supravegherea şi apărarea imună a organismului.

Genele care determină proteinele sistemului HLA sunt localizate 6p21.3. Ele sunt strâns înlănţuite şi determină haplotipuri, care se transmit monogenic: un haplotip HLA de la mamă şi unul de la tată, astfel că fiecare individ este semiidentic cu fiecare dintre părinţii săi. Există mai mulţi loci, corespunzători unor gene care codifică proteine cu roluri diferite, genele fiind grupate în trei clase distincte

Genele de *clasă I* ocupă locii HLA-A, HLA-B şi HLA-C şi prezintă fiecare un polialelism marcat (59 variante alelice pentru locusul A; 118 pentru locusul B şi 36 pentru locusul C). Ele determină glicoproteine antigenice exprimate pe suprafaţa tuturor celulelor nucleate (cu excepţia celulelor SNC, trofoblastice şi embrionare) şi sunt implicate în diferenţierea antigenelor proprii (*self*) de cele străine (*nonself*) de către limfocitele T citotoxice. Aceste antigene au un rol major în stabilirea compatibilităţii donor-acceptor în transplantele tisulare şi grefele de organe.

Genele de clasă II ocupă locii D (HLA-DP, HLA-DQ, HLA-DR) existând 12 variante alelice. Aceste gene produc proteine prezente pe membrana celulelor cu rol în prezentarea antigenelor către limfocitele T helper, având rol în recunoaşterea antigenelor străine şi declanşarea răspunsului imun umoral.

Genele de *clasă III* codifică componente ale sistemului complement.

Sistemul HLA este cel mai polimorfic sistem genetic, datorită numărului foarte mare de alele existente în populaţie pentru fiecare locus al sistemului. Fiecare persoană are câte o singură alelă pentru fiecare locus, rezultând un număr de aproximativ 300 milioane de haplotipuri şi 40 miliarde de genotipuri posibile în populaţie.

Majoritatea antigenelor HLA pot fi determinate prin metode serologice sau imunologice, permițând identificarea profilului biologic al individului. Determinarea antigenelor HLA are aplicabilitate pe de o parte în identificarea persoanei și teste de filiație și paternitate, iar pe de altă parte este folosită pentru stabilirea predispoziției pentru anumite afecțiuni deoarece a fost dovedită asocierea preferențială dintre anumit haplotip HLA și unele boli.

VII.2.1.4. Ecogenetica

Ecogenetica este partea geneticii medicale care studiază variațiile individuale determinate genetic la acțiunea unor factori din mediu. Acestea generează răspunsuri diferite la acțiunea agenților ecologici, ceea ce produce o sensibilitate particulară la agresiune. Substratul genetic al acestei variabilități este reprezentat în primul rând de polimorfismul genetic al unor loci, caracterizați prin polialelie.

În cadrul ecogeneticii au fost stabilite mai multe domenii, precum: **toxicogenetica** (variațiile individuale ale răspunsului organismului la acțiunea toxicelor din mediul ambiant) **mutagenetica** sau **ecogenetica mutațională** (polimorfismele genetice ce generează diferențele de reactivitate la acțiunea factorilor mutageni) sau **farmacogenetica** care studiază variațiile individuale determinate genetic la acțiunea unor medicamente.

Un exemplu al variațiilor individuale la agenții ecologici îl reprezintă susceptibilitatea diferită la infecții a unor persoane diferite. Aceste variații sunt generate de interacțiunea a două categorii de factori: protectori (statusul imunitar, starea de nutriție, nivelul de vitaminizare, condiția socială etc.) și agresori (tipul de tulpină infecțioasă și patogenicitatea acestuia).

Dintre factorii protectori cei mai importanți sunt cei imunitari. Astfel, anumite haplotipuri HLA cresc rezistența la infecție (de exemplu, haplotipul HLA B57 conferă imunitate la SIDA) în timp ce altele sunt asociate cu susceptibiltate crescută la infecții (de exemplu, haplotipul HLA 35 predispune la forme severe de SIDA).

Alte exemple de afecțiuni ecogenetice sunt:

- deficiența de lactază (incapacitatea metabolizării lactozei din lapte cu apariția diareei cronice)
- deficiența de alcooldehidrogenază (capacitate redusă de metabolizare hepatică a alcoolului etilic cu instalarea alcoolismului)
- deficiența de α1-antitripsină (răspuns anormal al țesutului pulmonar la acțiunea pulberilor și fumului de țigară cu apariția precoce a BPOC[61]).

[61] BPOC – bronhopneumopatie cronică obstructivă

VII.2.1.5. Farmacogenetica

Introducerea în practica medicală, în ultimii 50 de ani, a unui număr imens de medicamente noi a permis decelarea unor diferențe de acțiune, respectiv apariția de reacții adverse „supradimensionate" la acțiunea aceluiași principiu activ la bolnavi diferiți ce suferă de aceeași maladie sau declanșarea unor boli la administrarea unor medicamente.

Aceste variații individuale sunt condiționate de vârstă, sex, boală, interacțiuni medicamentoase, dar și de factorii genetici care influențează major metabolismul și eficacitatea medicamentului. Primele observații de acest fel au fost identificate în anii '50 ai secolului trecut, în urma folosirii primachinei în tratamentul malariei (la subiecții cu deficiență în G6PD) sau a izoniazidei acidului nicotinic în terapia tuberculozei.

Pe baza acestor observații a fost introdus conceptul de ***farmacogenetică*** ca *domeniu de studiu a variațiilor individuale determinate genetic la acțiunea medicamentelor.* Plecând de la aceste date au fost stabilite în ordine: natura genetică a *modificărilor* chimice ce însoțesc reacțiile medicamentelor, *enzimele* implicate în metabolizarea medicamentelor, genele care codifică aceste enzime și *alelele* genice răspunzătoare de efectele nedorite ale terapiei. În epoca geneticii moleculare, pe baza faramacogeneticii s-a dezvoltat o nouă direcție de cercetare – *farmacogenomica* – care studiază asocierea dintre genom (ADN) ARN, proteinele exprimate diferențiat în teritoriile sănătoase sau bolnave și răspunsul la medicamente, ceea ce ar putea furniza date referitoare la dozele adecvate de medicament pentru fiecare pacient.

În principiu, *natura* determinismului genetic al răspunsului la medicamente poate fi *monogenică* (distribuție biomodală a reactivității – unii pacienți fac reacții adeverse grave, iar alții nu fac nici o reacție adversă) sau *multifactorială* (distribuție continuă a reactivității – gravitatea reacții adeverse variază de la foarte ușoare la foarte grave).

Ca orice produs exogen introdus în organismul uman, medicamentul va suferi acțiunea a numeroase mecanisme, condiționate genetic, implicate în absorbția, transportul, recunoașterea specifică, metabolizarea și excreția produsului respectiv.

Modul de realizare a acestor mecanisme asigură: **variabilitatea farmacocinetică** (diferențele de absorbție, rată de metabolizare și eliminare a medicamentului) și **variabilitatea farmacodinamică** (polimorfismele proteinelor implicate în transportul medicamentelor în organism și ale țintelor terapeutice - receptori, enzime).

Variabilitatea farmacogenetică a fost identificată în metabolizarea medicamentelor, caracterizată prin două etape:

- Faza I de *biotransformare*, prin reacţii de oxidare, dehidrogenare, hidroliză etc;
- Faza II de *conjugare*, prin reacţii de acetilare, glucuronidare, sulfatare, metilare etc.

VII.2.1.5.1. Faza I de biotransformare a medicamentelor.

Cele mai importante enzime implicate în faza I de metabolizare a medicamentelor sunt enzimele din superfamilia **citocromului P-450**. Dintre acestea, **CYP2D6** sau citocromul P-450 2D6 prezintă un polimorfism genetic ce influenţează metabolizarea multor medicamente (tabelul VII.3.) şi determină diferenţe individuale ale efectelor farmacocinetice şi terapeutice. Identificarea profilului normo/ hipo/ hipermetabolizant se face prin screeningul SNPs[62]

Tabelul VII.3. Polimorfisme genetice care afectează raspunsul la o serie de medicamente

Enzima	*Localizare cromosomică*	*Frecvenţa*	*Exemple de medicamente*	*Efect*
Enzime de clasa I				
CYP2D6	22q13.1	6-10% - caucazieni; 2-5% - afro-americani; 1% - asiatici	Debrisoquina; Sparteina; Nortriptilina; Codeina.	accentuat; accentuat; accentuat; redus.
CYP2C9	10q24	6-8% - caucazieni	Warfarina; Fenitoina	accentuat; accentuat.
CYP2C19	10q24.1-24.3	3-5% - caucazieni; 12-23% - asiatici	Omeprazol	accentuat
Dihidropirimidin dehidrogenaza	1p24	1%	5-Fluorouracil	accentuat
Butirilcolinesteraza	3q26.1-26.2	1 la 3500 europeni	Succinilcolina	accentuat
Enzime de clasa II				
NAT2	8p23.1-21.3	52% dintre caucazinei; 17% dintre japonezi	Izoniazida; Hidralazina; Procainamida.	accentuat; accentuat; accentuat.
Uridin difosfat glucuronozil-transferaza 1A1	2q37	11% dintre caucazieni; 1-4% dintre asiatici.	Irinotecanul; Bilirubina	accentuat; Sindrom Gilbert
Tiopurin 5-metiltransferaza	6p22.3	1 la 300 caucazieni; 1 la 2500 asiatici.	Mercaptopurina; Azatioprina	Toxicitate; Toxicitate.
Catecol O-metiltransferaza	22q11.2	25% dintre caucazieni	Levodopa	accentuat

Citocromul P-450 2D6 intervine în oxidarea produşilor exogeni, inclusiv a medicamentelor. Circa 5-10% din persoanele caucaziene au o

[62] Vezi subcapitolul Polimorfismul fragmentelor de ADN

deficienţă de oxidare a unor medicamente (de exemplu, *debrisoquina*[63] şi *sparteina*[64]) astfel încât astfel de principii active sunt slab metabolizate, eliminate lent, iar concetraţia lor plasmatică se menţine la un nivel înalt pentru perioade lungi, ceea ce generează reacţiile adeverse.

Studiile genetice au arătat că oxidarea redusă a acestor medicamente se transmite recesiv autosomal, iar subiecţii sunt homozigoţi (sau heterozigoţi compuşi) pentru alele ce codifică enzime cu activitate CYP2D6 redusă sau nulă.

Alte enzime ale ale citocromului P-450, implicate în metabolizarea unor medicamente specifice şi care prezintă polimorfisme genetice sunt: CYP2C9 (metabolizează warfarina, losartranul, fenitoina); CYP2C19 (metabolizează omeprazolul) sau CYP3A5.

Un alt exemplu de farmacogenetică a fazei I de transformare a medicamentelor îl reprezintă metabolismul *fluorouracilului,* un medicament antineoplazic, care în dozele standard poate produce o afectare fatală a SNC la persoanele cu deficienţă a dihidropirimidin dehidrogenazei.

VII. 2.1.5.2. Faza II de conjugare enzimatică a medicamentelor.

Transformarea medicamentelor în faza a II-a este condiţionată de intervenţia a numeroase enzime, ce acţionează în reacţiile de metabolizare, caracterizate printr-un înalt polimorfism genetic.

Un exemplu este *N-acetiltransferază.* Intervenţia acestei enzime în metabolizarea medicamentelor a fost depistată la introducerea izoniazidei acidului nicotinic în tratamentul tuberculozei. Astfel, o parte dintre pacienţi făceau neuropatii severe la doze standard de medicament, în timp ce în majoritatea cazurilor aceste reacţii adverse lipseau. Studiile enzimatice au atestat existenţa a două izoforme de N-acetiltransferază, codificate de două alele – NAT_1 şi NAT_2 – localizate pe cromosomul 8. Indivizii care au alela NAT_2 în formă homozigotă produc o enzimă cu activitate redusă, ceea ce determină menţinerea pentru lung timp a izoniazidei în organism, răspunzătoare de apariţia neuropatiei şi depresiei medulare[65]. Ulterior, a fost dovedită intervenţia N-acetiltransferazei şi în metabolizarea procainamidei, hidralazinei, nitrazepamului, sulfametazinei etc.

Un alt exemplu este *tiopurin S-metiltransferaza.* Enzima asigură metilarea tiopurinelor, precum mercaptopurina şi azatioprina, antimetaboliţi folosiţi ca imunosupresoare şi în tratamentul unor cancere. Studiile farmacologice au indicat că există trei categorii de persoane: cu metabolizare scăzută, medie sau înaltă. Astfel, persoanele care metabolizează lent

[63] Debrisoquina - medicament antihipertensiv
[64] Sparteina - medicament antiaritmic şi oxitocic
[65] Aceste reacţii adverse sunt întâlnite la aproxiamtiv 65% din populaţia caucaziană

tiopurinele, mențin o concentrație crescută a medicamentelor, răspunzătoare de apariția unei mielodisplazii. Pe de altă parte, la indivizii cu o metabolizare rapidă, eficacitatea terapeutică a tiopurinelor este redusă. Pe baza acestei variabilități populaționale au fost stabilite o serie de teste farmacogenetice, care permit individualizarea terapiei.

Efectul medicamentelor poate fi influențat însă şi de alte gene care codifică produşi funcționali care nu sunt implicați în biotransformarea medicamentelor. Astfel:

- Femeile cu tulburări *de coagulare* sunt predispuse la tromboze venoase când iau contraceptive orale;
- Persoanele care au mutații ale genei *RYR1* ce codifică un canal de calciu prezintă *hipertermie malignă* la administrarea de anestezice generale.
- Efectele statinelor în tratamentul aterosclerozei poate fi modificat de variațiile individuale ale proteinelor de transfer ale *esterilor de colesterol*;
- Unii pacienți ce iau terapie cu sulfametoxazol sau claritromicină pot prezenta aritmii grave (sindrom QT-lung) datorită polimorfismului unor *transportori celulari de sodiu şi potasiu*;
- Polimorfismul genei *apolipoproteinei E* (APOE) este implicat în diferențele de răspuns în terapia bolii Alzheimer; astfel pacienții care au alela APOE 4 (circa 40%) au răspuns redus la tratamentul cu inhibitori de acetilcolinesterază, precum tacrina.

În continuare vom prezenta câteva din cele mai frecvente afecțiuni farmacogenetice: deficitul de pseudocolinesterază (caseta VII.1.); hipertermia malignă (caseta VII.2.); deficiența în glucozo-6-fosfat dehidrogenază (caseta VII.3.).

VII.2.1.6. Valoarea teoretică şi practică a studiului caracterelor ereditare normale

Studiul caracterelor ereditare normale are numeroase aplicații teoretice şi practice.

Principalele puncte de ***interes teoretic***, legate de studiul caracterelor ereditare normale, sunt:

- demonstrarea la om a valabilității *legilor lui Mendel*: "legea purității gameților" şi "legea segregării independente a genelor";
- studiul *funcției genice* - analiza produşilor genei (proteine sau enzime) permite identificarea funcției genei analizate, precum şi decelarea efectului existenței unei mutații genice noi;
- evidențierea la om a unor *fenomene genetice*, descoperite la alte specii, precum himerele, dubla fecundare, recombinarea genică, nedisjuncția meiotică, ceea ce atestă universalitatea proceselor genetice, valabile atât cele mai simple organisme, cât şi la mamiferul cel mai evoluat – omul;

Caseta VII.1. Deficitul de pseudocolinesterază

Incidență - 1/3.000 de nou-născuți

Tip de transmitere - recesiv autosomal

Genetică - gena pseudocolinesterazei sau butirilcolinesterazei (BCHE) este localizată 3q21-26; persoanele sensibile la succinilcolină sunt homozigote pentru alela mutantă.

Patogenie:

- Pseudocolinestaraza sau butirilcolinesteraza este enzima care asigură scindarea succinilcolinei în două molecule de acetilcolină
- Deficitul acestei enzime este implicat în apariția unor efecte prelungite ale anesteziei cu succinilcolină.
- În absența enzimei, succinilcolina se menține la niveluri serice înalte.

Diagnostic clinic - evidențierea unei miorelaxări prelungite (mai mult de 1 oră) după administrarea unei anestezii generale cu succinilcolină;

Prognostic - bun; exceptând situațiile în care sunt supuse unei anestezii cu succinilcolină.

Tratament - aplicare de ventilație asistată în timpul anesteziei cu succinilcolină și adpatarea dozelor de anestezic în raport cu statusul enzimatic.

Caseta VII.2. Hipertermia malignă

Incidență – 1/15.000 copii; 1/50.000 adulți

Tip de transmitere - dominant autosomal cu eterogenitate alelică

Genetică

- au fost identificați 6 loci asociați cu hipertermia malignă, notați MHS 1-6;
- Locusul MHS1 este asociat cu 50% dintre cazurile de hipertermie malignă și este ocupat de gena RYR1, localizată 19q13.1; această genă codifică un canal de calciu sarcoplasmic numit și receptor rianodinic;
- Gena ce ocupă locusul MHS2 (SCN4AI) este localizată 17q11-24 și codifică un canal de sodiu prezent în mușchiul striat.
- Gena ce ocupă locusul MHS3 (CACNA2D1), localizată 7q21-22, codifică subunitatea α_2/δ a unui canal de calciu dependent de voltaj prezent în mușchiul striat, cunoscut sub numele de receptorul dihidropiridinic. Pe de altă parte, gena ce ocupă locusul MHS5 (CACNA1S), localizată 1q32, codifică subunitatea α_1 a aceluiași receptor.
- Genele caracteristice locilor MHS 4 și MHS 6 sunt încă necunoscute

Patogenie - Dereglarea fluxului ionic în fibra musculară striată cu accelerarea metabolismului muscular și apariția de tulburări contractile.

Diagnostic clinic - apariția după administrarea de relaxante musculare depolarizante a unei creșteri a temperaturii corporale peste 40^0C, însoțită de contracturi musculare și tahicardie;

Diagnostic paraclinic - evidențierea acidozei metabolice, a creșterii pCO2 și a nivelului de lactate, scăderea potasiului seric, apariția în ser a creatinkinazei și mioglobinei

Screening - compararea *in vitro* a răspunsului fibrei musculare normale și a celei patologice la acțiunea miorelaxantă a cafeinei sau a halotanului;

Prognostic - infaust; în absența depistării persoanelor susceptibile boala este letală în 70% din cazuri; prin aplicarea testelor preliminare de detecție și a măsurilor de corecție mortalitatea este scăzută la 10%.

Tratament - scăderea cât mai urgentă a temperaturii corporale (băi reci, aplicarea de pungi de gheață la nivelul axilelor și zonei inghinale), monitorizarea respirației prin administrare de oxigen, controlul funcției renale și a celei cardiace.

Caseta VI.3.

Deficitul de glucozo-6-fosfat dehidrogenază

Incidenţă – 10% din populaţia afro-americană; incidenţă crescută în zonele endemice pentru malarie; cea mai frecventă enzimopatie ~400.000.000 bolnavi în lume

Tip de transmitere – recesivă legată de cromosomul X

Genetică - Gena G6PD este localizată Xq28 şi conţine 13 exoni;

- Au fost identificate mai mult de 400 de mutaţii (majoritatea substituţii punctiforme) ce determină hipofuncţie enzimatică;
- Boala este prezentă la hemizigoţii X^aY, iar mutaţia este transmisă de heterozigotele X^NX^a, care uneori pot prezenta forme fruste de boală datorită inactivării întâmplătoare a cromosomilor X;
- Frecvenţa mare a genei mutante este explicată de avantajul selectiv al purtătorilor care au imunitate naturală la malarie (infecţia cu *Plasmodium falciparum*);

Patogenie - Glucozo-6-fosfat dehidrogenaza este enzima cheie în şuntul pentoz-fosfaţilor la nivelul eritrocitului, asigurând formarea de NAPDH, necesar în biosintezele reductive şi în detoxifierea radicalilor liberi de oxigen.

- Deficitul enzimatic se asociază cu scăderea cantităţii de NAPDH şi favorizarea apariţei de anemie hemolitică datorită toxicităţii radicalilor liberi de oxigen;
- Substanţele antioxidante (acetanilidă, furazolidon, albastru metilen, acid nalidixic, naftalen, niridazol, izobutil-nitrit, naftalen, nitrofurantoin, fenazopiridină, primaquină, sulfacetamidă, sulfanilamidă, sulfapiridină, tiazolsulfonă, albastru de toluidină, trinitrotoluene, fenilhidrazină) determină stres oxidativ cu apariţia de episoade anemie hemolitică.

Diagnostic clinic - apariţia după administrarea de substanţe cu caracter antioxidant sau consumul de bob (*Vicia* faba) a unor episoade de anemie hemolitică, manifestată prin distrugerea intravasculară a hematiilor cu scăderea numărului de eritrocite, a hemoglobinei, hematocritului şi apariţia în sânge a corpilor Heinze ca urmare a distrugerii globulelor roşii;

- episoade de hemoliză pot fi induse şi de o serie de infecţii sau de creşterea glicemiei în diabetul zaharat neurmărit;
- deseori la indivizii afectaţi de deficitul de glucozo-6-fosfat dehidrogenază se poate depista un icter neonatal prelungit (probabil ca expresie a deficitului enzimatic la nivelul hepatocitului);

Diagnostic paraclinic – efectuarea frotiului de sânge periferic, determinarea serică a hemoglobinei, hematocritului şi numărului de eritrocite;

Screening – detecţia presimptomatică *in vitro* a mutaţiei la indivizii hemizigoţi sau la heterozigote se bazează pe evidenţierea modificărilor hematiilor în urma colorării cu substanţe antioxidante (albastru crezil brilliant, albastru metilen) sau aplicarea unui test fluorescent pentru decelarea directă a nivelului de NAPDH;

Prognostic – este favorabil, deşi episoadele de hemoliză se pot repeta.

Tratament – eliminarea cât mai urgentă a agentului cauzal al hemolizei şi transfuzie cu sânge izogrup AB0 şi Rh în cazurile severe;

- la copiii cu icter neonatal se poate face fototerapie, se poate administra fenobarbital pentru a stimula funcţia enzimatică hepatică sau se poate face exsanguinotransfuzie totală dacă bilirubinemia este intensă.

- studiile de *înlănţuire genică* între locusul unui caracter fenotipic normal (utilizat ca marker) şi locusul unui caracter morbid permit

identificarea unor mutații noi și sunt folosite pentru determinarea indirectă a poziției genelor necunoscute pe cromosomi și implicit pentru realizarea *hărților cromosomice.*

Aplicațiile practice ale studiului caracterelor ereditare normale sunt:

- *identificarea persoanelor* – datorită existenței a numeroase caractere monogenice normale și a polimorfismului fenotipic al acestora probabilitatea ca doi indivizi (cu excepția gemenilor monozigoți, care provenind din aceeași celulă au aceleași gene) să fie identici din punct de vedere genetic este minimă. Astfel, fiecare individ este un *unicat biologic.* Cu cât numărul de caractere monogenice investigate este mai mare, cu atât identificarea unei persoane este mai certă. Totuși, datorită testării unui număr limitat de sisteme monogenice, stabilirea cu certitudine a identității unei persoane este de obicei *imposibilă.* În condițiile determinării și a polimorfismului HLA, probabilitatea de eroare se reduce foarte mult;
- *expertiza filiației și paternității* – testele de filiație și paternitate nu pot atesta că un copil aparține unui anumit cuplu sau că un bărbat este tatăl unui anumit copil, datorită folosirii unui număr limitat de sisteme monogenice, aceste teste fiind doar teste de *excludere*;
- *diagnosticul tipului de gemelaritate* – utilizarea analizei mai multor sisteme monogenice permite să stabilim dacă doi gemeni sunt *monozigoți* sau *dizigoți*
  - în condițiile în care un anumit caracter monogenic nu concordă la doi gemeni de același sex, în mod cert cuplul gemelar este dizigot;
  - în schimb, dacă toate determinările sunt concordante nu se poate stabili cu exactitate tipul de gemelaritate, dar cu cât numărul de sisteme analizate este mai mare, cu atât probabilitatea gemenilor de a fi monozigoți este mai mare;
- *stabilirea compatibilității între donator și primitor în cazul transfuziilor sanguine și a transplantelor de organe*:
  - determinarea tipului de grup sanguin AB0 și Rh este obligatorie înaintea oricărei transfuzii de sânge, atât la donator, cât și la primitor, pentru a preveni apariția unor accidente posttransfuzionale, care pot determina chiar și decesul persoanei transfuzate;
  - în cazul transplantelor de organe, pentru a preveni rejetul grefei, este obligatorie existența unei compatibilități în sistemul HLA între donator și primitor (în special pentru genele A, B și C);
- *asocierea dintre anumite caractere monogenice și unele boli*:
  - incompatibilitatea feto-maternă în sistemul Rh este implicată în patogenia bolii hemolitice a nou-născutului –determinarea fenotipului Rh, atât la femeia însărcinată cât și la presupusul tată permite

aplicarea unor măsuri de profilaxie primară; cunoaşterea existenţei unei imunizări prealabile cu antigen D a femeii Rh- permite aplicarea unor măsuri de profilaxie secundară, cu scopul împiedicării apariţiei bolii hemolitice a nou-născutului;

- în condiţiile în care este cunoscută existenţa unei înlănţuiri genice între locusul genei unui caracter monogenic normal şi cel al genei implicate într-o boală monogenică, se poate stabili, în mod indirect, prin studii de înlănţuire genică, prezenţa sau absenţa genei mutante la descendenţii unui cuplu cu risc; exemple de astfel de înlănţuiri sunt:
  - locusul sistemului de grup sanguin Rh şi locusul genei elipsocitozei[66];
  - locusul genelor HLA de clasă III şi locusul 21 hidroxilazei[67];
- unele haplotipuri HLA sunt asociate cu anumite afecţiuni – explicaţia acestei asocieri nu este încă posibilă, dar depistarea unui anumit haplotip HLA la o persoană, atestă existenţa riscului individului respectiv de a face boala; exemple de astfel de asocieri sunt:
  - diabet zaharat tip I - haplotipul HLA DR3 sau DR4;
  - spondilita ankilopoetică - haplotipul HLA B27;
  - hemocromatoză- haplotipul HLA A3.

VII.2.2. POLIMORFISMUL ADN

Introducerea tehnicilor de analiză moleculară a permis identificarea la nivelul secvenţelor intergenice de ADN a unui polimorfism mult mai amplu, decât cel identificat în cazul caracterelor fenotipice normale (proteine sau enzime).

VII.2.2.1. Polimorfismul lungimii fragmentelor de restricţie

Prin clivarea moleculei de ADN cu ajutorul unei enzime de restricţie rezultă o serie de fragmente de ADN, de dimensiuni diferite, care pot fi detectate prin hibridare cu sonde de ADN (*Southern blotting*)[68].

---

[66] Elipsocitoza este o formă de anemie hemolitică intravasculară, determinată de prezenţa unor hematii de formă ovalară, ceea ce favorizează distrugerea prematură a hematiilor şi formarea trombilor capilari; afecţiunea are o transmitere dominant autosomală şi este determinată de mutaţia genei α sau β spectrinei, gene localizate 1p36.2-p34, la fel ca şi genele sistemului de grup snaguin Rh

[67] Deficitul de 21-hidroxilază este o enzimopatie ce determină sindromul adrenogenital; anomalia duce la blocarea formării suprarenaliene a glucocorticoizilor şi mineralocorticoizilor, respectiv transformarea colesterolului în testosteron; datorită mecanismului de feed-back negativ se produce un exces hipofizar de ACTH cu creşterea de volum a corticosuprarenalelor

[68] Vezi capitolul **Tehnologia ADN recombinant**

În condițiile în care un anumit fragment de ADN este identic la persoane diferite, prin folosirea aceleiași enzime de restricție ar trebui să rezulte un număr identic de fragmente de ADN, cu o anumită dimensiune. S-a dovedit că pentru același fragment al unei molecule de ADN, utilizând aceeași enzimă de restricție, la persoane diferite rezultă fragmente de clivare de lungimi diferite. Acest aspect este caracteristic ***polimorfismului lungimii fragmentelor de restricție*** (***RFLPs*** – *Restriction Fragment Length Polymorphisms*). Acest polimorfism poate fi generat prin două mecanisme (figura VII.3.).

Prin modificarea situsurilor de restricție, datorită mutațiilor punctiforme, rezultă așa-numitul ***polimorfism al unui singur nucleotid*** (**SNPs** – *Single Nucleotide Polymorfisms*). La ora actuală există tehnici de analiză genetică care permit detecția acestor SNPs, nu numai la nivelul situsurilor de restricție, ci în orice regiune cromosomică. Evidențierea SNPs este folosită pentru cartografierea genetică și pentru analiza contribuției diferitelor gene la generarea fenotipului bolilor genetice complexe.

VII.2.2.2. Polimorfismul secvențelor repetitive în tandem

Majoritatea RFLPs-urilor, generate prin deleția sau inserția unor secvențe nucleotidice, sunt consecința modificării numărului de repetiții ale ***minisateliților***[69]. Acești minisateliți, constituiți din 10-100 pb, prezintă un polimorfism determinat de modificarea numărului de secvențe repetitive – ***număr variabil al secvențelor repetitive în tandem*** (**VNTR** – *Variable Number of Tandem Repeat*).

Numărul de repetiții ale aceleiași secvențe de ADN este diferit în diverse regiuni genice, astfel că prin hibridare prin tehnica *Southern blott*[70], a unor fragmente VNTR provenite din regiuni cromosomice diferite, este posibilă identificarea unei *configurații individuale*. Practic, numai gemenii monozigoți prezintă aceeași configurație a VNTR. Datorită acestei particularități, analiza VNTR este folosită, în medicina legală, pentru identificarea persoanelor, prin tehnica ***amprentei ADN*** (*DNA fingerprinting*).

VII.2.2.3. Polimorfismul microsateliților

Microsateliții sunt secvențe repetitive de ADN, formate doar din câteva perechi de baze azotate, de tipul TGTG···TG, TAGTAG···TAG sau TCCGTCCG···TCCG. De obicei, la nivelul unei anumite regiuni cromosomice, numărul acestor secvențe repetitive diferă nu numai la indivizi diferiți, chiar între cei doi cromosomi omologi. Polimorfismul acestor secvențe este atât de important încât pentru un anumit locus probabilitatea unui individ de a fi heterozigot este mai mare de 70%.

---

[69] Vezi capitolul **Stocarea informației genetice**

[70] Vezi capitolul **Tehnologia ADN recombinant**

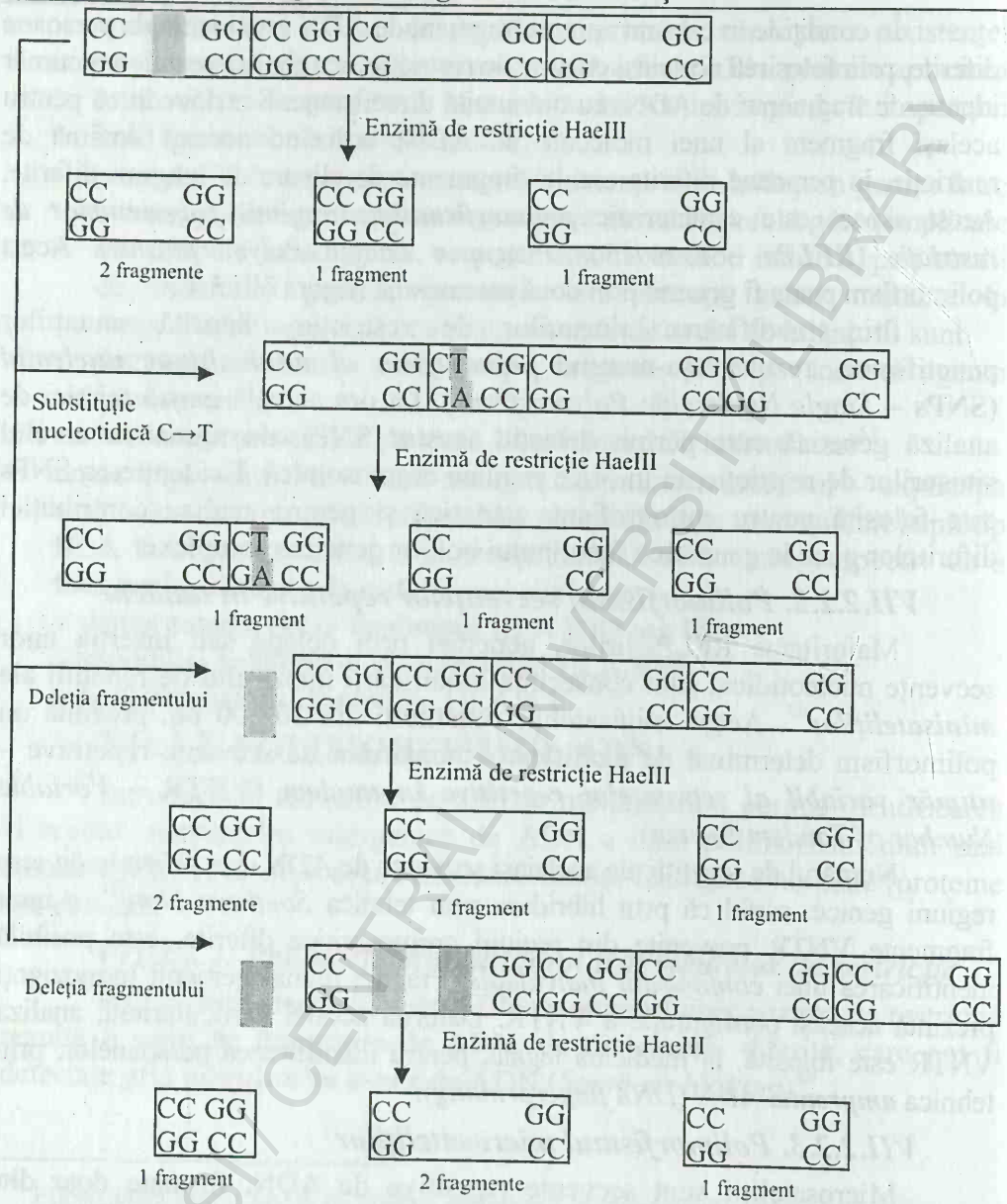


Figura VII.3. Mecanismele de generare a polimorfismului lungimii fragmentelor de restricţie

Evidenţierea polimorfismului microsateliţilor este aplicabilă în studiile de înlănţuire genică.

Analiza polimorfismului microsateliţilor este mai uşor de efectuat decât cea a polimorfismului RFLPs şi VNTR, deoarece pentru evidenţierea acestui tip de polimorfism se foloseşte tehnica PCR şi nu tehnica *Southern Blott*[71].

[71] Vezi capitolul **Tehnologia ADN recombinant**

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

VII.2.2.4. Aplicațiile practice ale studiului polimorfismului ADN

Dezvoltarea tehnicilor de analiză moleculară a ADN-ului a permis identificarea unei multitudini de aplicații practice ale studiului polimorfismului ADN-ului. Analiza polimorfismului ADN-ului se aplică pentru cartografiere cromosomică în studii de înlănțuire genică, diagnosticul prenatal sau presimptomatic al unor afecțiuni genetice, detecția heterozigoților în bolile recesive, evaluarea predispoziției genetice în cancer și bolile multifactoriale, identificarea persoanelor și teste de filiație/ paternitate în medicina legală, stabilirea compatibilității donator/ primitor în transplantele de organ, precum și în farmacogenomică.

VII.3. MUTAȚIILE GENETICE

Mutațiile genetice sunt definite ca modificări ***accidentale, permanente*** și ***ereditare*** ale materialului genetic.

VII.3.1. CLASIFICAREA MUTAȚIILOR

Clasificarea mutațiilor poate fi realizată utilizând mai multe criterii.

În raport cu ***genomul*** interesat pot fi identificate două tipuri de mutații: *mutații nucleare* – când este afectat ADN-ul nuclear și *mutații mitocondriale* - când este interesat genomul mitocondrial.

Dependent de ***gradul de afectare al materialului genetic nuclear*** (figura VII.4.) pot fi identificate:

- *Mutații genomice* – reprezentate de poliploidii și aneuploidii;
- *Mutații cromosomice* – determinate de rearanjamentele cromosomice, care induc diverse anomalii cromosomice structurale (deleții, duplicații, translocații, inversii etc.);
- *Mutații genice* – determinate de modificarea structurii unei singure gene (substituții, inserții, deleții, duplicații etc.).

În raport cu ***numărul de celule afectate*** mutațiile pot fi:

- *Mutații omogene* – prezente în toate celule organismului, care sunt rezultatul unei mutații prezentă în genomul zigotului și care a fost moștenită de la unul dintre părinți;
- *Mutații în mozaic* – rezultate ca urmare a modificării materialului genetic pe parcursul vieții; acestea la rândul lor pot fi de două tipuri: mutații somatice (modificarea materialului genetic este prezentă într-un singur țesut, deseori sunt implicate în carcinogeneză și procesele de degenerescență tisulară, dar nu se transmit la descendenți) și mutații germinale (modificarea materialului genetic s-a produs la nivelul uneia dintre gonade (ovar sau testicul) nu modifică fenotipul purtătorului, dar se pot transmite la descendenți, cauzând tulburări de reproducere).

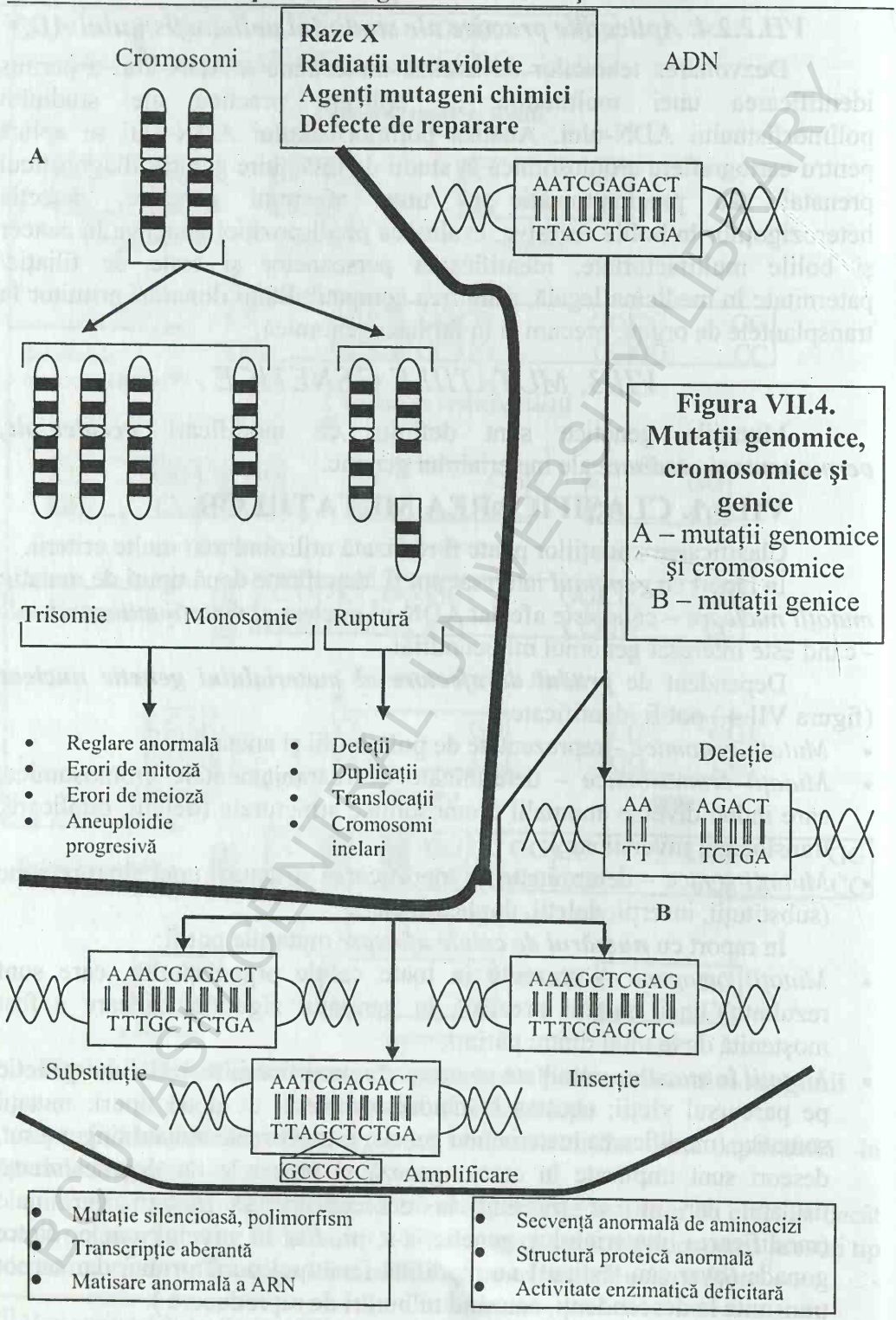


Figura VII.4. Mutaţii genomice, cromosomice şi genice
A – mutaţii genomice şi cromosomice
B – mutaţii genice

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Dependent de ***efectul fenotipic*** mutațiile pot fi clasificate în:

- *Mutații neutre* – acest tip de mutații sunt cele mai frecvente; ele sunt localizate fie la nivelul unei regiuni intergenice, fie în secvențele netranslate ale genelor, fiind răspunzătoare de polimorfismul populațional al fragmentelor de ADN;
- *Mutații nefavorabile (morbide)* – aceste mutații produc modificări particulare ale fenotipului, fiind răspunzătoare de manifestările diverselor tipuri de boli genetice;
- *Mutațiile favorabile* – sunt rarisime, existând doar câte una la mii de generații; acest tip de mutații a permis evoluția speciilor și apariția de specii noi.

VII.3.2. MUTAȚIILE GENOMICE

Mutațiile genomice determină modificarea numărului de cromosomi. Ele reprezintă o importantă componentă a patologiei ereditare umane, atât datorită frecvenței globale, cât mai ales datorită consecințelor lor fenotipice și reproductive.

Rata mutațiilor genomice este foarte înaltă de aproximativ 10^{-2}/ diviziune celulară, dar frecvența acestor mutații este mică, deoarece majoritatea acestor mutații nu se perpetuează, deoarece sunt incompatibile, fie cu supraviețuirea, fie cu reproducerea.

Anomaliile numărului de cromosomi produc modificări importante ale cantității de material genetic dintr-o celulă, consecințele lor fenotipice fiind determinate de efectele dozajului genic. Ele se împart în două categorii: poliploidii și aneuploidii.

Poliploidia se caracterizează prin prezența în plus a unuia sau mai multor seturi haploide de cromosomi (n=23 cromosomi) față de numărul diploid normal (2n=46 cromosomi).

La specia umană singurele poliploidii depistate sunt: *triploidia* (3n=69 cromosomi) și *tetraploidia* (4n=92 cromosomi).

Poliploidiile se caracterizează prin modificări importante ale cantității de material genetic celular, inducând modificări majore ale fenotipului, cu efect letal (pierderea produsului de concepție în primele săptămâni de sarcină).

Aneuploidia se caracterizează prin modificarea numărului diploid de cromosomi (2n = 46 cromosomi) datorită pierderii unui cromosom sau prezenței în exces a 1, 2 sau 3 cromosomi. Cele mai frecvente aneuploidii sunt: *trisomiile* și *monosomiile.*

Trisomiile se caracterizează prin prezența într-o celulă somatică a trei exemplare ale aceluiași cromosom, în locul perechii normale de cromosomi omologi (2n+1).

La specia umană majoritatea trisomiilor complete sunt letale, ducând la avorturi spontane precoce. Singurele excepţii sunt trisomiile autosomale: 21, 18, 13, 8, şi cele gonosomale (XXX, XXY şi XYY).

Monosomiile sunt anomalii caracterizate prin prezenţa într-o celulă somatică a unui singur cromosom, în locul unei perechi de cromosomi (2n-1). Efectele fenotipice ale monosomiilor sunt mult mai grave decât cele ale trisomiilor, astfel încât la om singura monosomie viabilă este monosomia X.

În cazul anomaliilor gonosomilor sunt posibile şi tetrasomii (48,XXXX, 48,XXYY, 48,XXXY) sau chiar pentasomii (49,XXXXX, 49,XXXXY).

VII.3.2.1. Mecanismele de producere a mutaţiilor genomice

Poliploidiile pot rezulta prin erori: *meiotice, mitotice* sau *de fecundare.*

Triploidiile pot rezulta prin erori meiotice sau erori de fecundare. Eroarea meiotică constă în nesepararea citelor de ordin II şi poate afecta, atât meioza feminină, cât şi cea masculină.

Neexpulzarea celui de-al doilea globul polar, în timpul meiozei II feminine, conduce la formarea unui ovul anormal diploid, fenomen denumit *diginie.*

Afectarea meiozei masculine duce la formarea unui spermatozoid diploid anormal, fenomen numit *diandrie.* Prin fecundarea unui gamet diploid cu un gamet normal haploid rezultă un zigot triploid.

Eroarea de fecundare ce poate conduce la apariţia unui zigot triploid se numeşte *dispermie* şi constă în fecundarea concomitentă a unui ovul normal (n=23 cromosomi) de către doi spermatozoizi normali (n=23 cromosomi).

Tetraploidiile sunt, de obicei, consecinţa unei erori mitotice, numită *endoreduplicare.* Eroarea se caracterizează prin blocarea mitozei zigotului, după terminarea replicării ADN-ului nuclear. Cromatidele cromosomilor nu se pot separa, iar celula trece direct în faza G_1 a unui nou ciclu celular, perioadă în care cromosomii se despiralizează, producându-se şi separarea cromatidelor surori. Astfel, numărul de cromosomi din celulă se dublează de la 2n la 4n. O posibilitate, mai mult teoretică, este fecundarea unui ovul diploid de către un spermatozoid diploid.

Aneuploidiile omogene sunt consecinţa unor erori produse în cursul meiozei: nedisjuncţia cromosomică, nedisjuncţia cromatidiană şi întârzierea anafazică.

Nedisjuncţia cromosomică este un fenomen ce poate apărea în cursul meiozei I, fiind caracterizat prin migrarea celor doi cromosomi omologi la acelaşi pol al fusului de diviziune. Consecinţa acestei erori de distribuţie a materialului genetic este formarea a doi gameţi anormali: unul disomic (n+1=24 cromosomi) iar celălalt nulisomic (n-1=22 cromosomi) (figura VII.5.a). Fecundarea acestor gameţi de către gameţi normali (n=23

cromosomi) conduce la formarea de zigoți aneuploizi trisomici, respectiv monosomici.

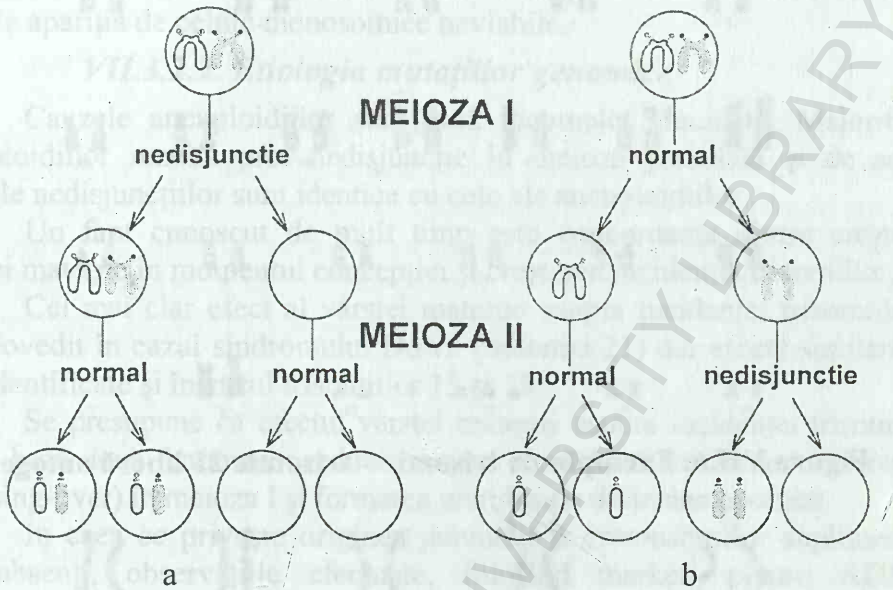


Figura VII.5. Mecanismele de formare a gameților anormali prin nedisjuncție cromosomică (a) sau cromatidiană (b)

Nedisjuncția cromatidiană poate apărea în meioza II şi se caracterizează prin migrarea celor două cromatide surori ale unui cromosom la acelaşi pol al fusului de diviziune. Consecința acestei erori este apariția a doi gameți anormali: unul disomic, iar celălalt nulisomic (figura VII.5.b). Fecundarea acestor gameți de către gameți normali conduce, de asemenea, la formarea de zigoți trisomici (figura VII.6.), respectiv monosomici (figura VII.7.).

Întârzierea anafazică este un accident care se poate produce în anafazele ambelor meioze (mai frecvent în anafaza II) şi constă în blocarea migrării sau reducerea vitezei de migrare a unor cromosomi (cromatide) normal segregați(te). Cromosomul sau cromatidele "*întârziate*" nu vor mai putea fi integrate într-unul din nucleii celulelor fiice şi vor rămâne în citoplasmă sub forma unui micronucleu, care se va pierde în cursul diferențierii sau diviziunilor ulterioare. Efectul întârzierii anafazice este apariția unor gameți nulisomici, care prin fecundare cu gameți normali vor conduce la zigoți cu monosomie.

Aneuploidiile în mozaic sunt consecința unor erori de mitoză: nedisjuncția cromatidiană şi întârzierea anafazică. Efectul *nedisjuncției cromatidiene* este diferit în funcție de celula afectată şi de cromosomul implicat. Nedisjuncția cromatidiană poate determina mozaicuri cromosomice de tipul 47/45 sau 47/46/45.

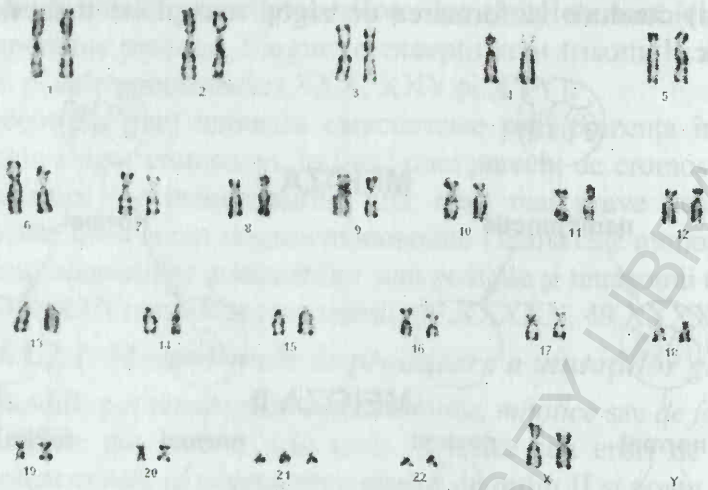


Figura VII.6. Exemplu de trisomie – trisomie 21 liberă omogenă

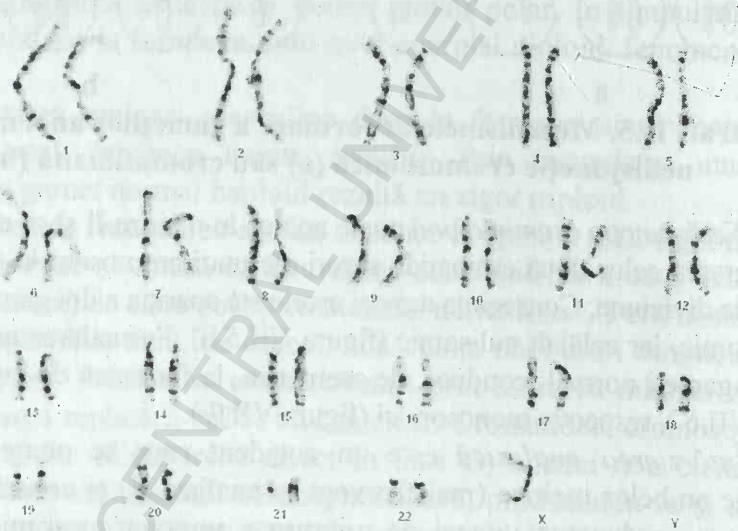


Figura VII.7. Exemplu de monosomie – monosomie X

Mozaicul de tip 47/45 rezultă printr-o nedisjuncție cromatidiană în cursul diviziunii zigotului. Deoarece monosomiile autosomale şi monosomia Y sunt neviabile, singurele mozaicuri de tip 47/45 sunt cele: 47,XXX/45X sau 47,XYY/45,X. Nedisjuncția cromatidiană a altui cromosom induce o trisomie omogenă, deoarece celulele monosomice vor fi eliminate.

Afectarea diviziunii unei celule într-o etapă ulterioară de dezvoltare conduce la un mozaic de tip 47/46 (când este implicat un autosom sau cromosomul Y) sau la un mozaic de tip 47,XXX/46,XX/45,X sau 47,XYY/46XY/45,X (când este implicat cromosomul X).

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Întârzierea anafazică determină exclusiv un mozaic cromosomic de tip 46,XX/45,X sau 46,XY/45,X, deoarece implicarea unui alt cromosom duce la apariția de celule monosomice neviabile.

VII.3.2.2. Etiologia mutațiilor genomice

Cauzele aneuploidiilor sunt încă incomplet elucidate. Majoritatea aneuploidiilor rezultă prin nedisjuncție în meioza parentală și de aceea cauzele nedisjuncțiilor sunt identice cu cele ale aneuploidiilor.

Un fapt cunoscut de mult timp este concordanța dintre creșterea vârstei materne în momentul concepției și creșterea incidenței trisomiilor.

Cel mai clar efect al vârstei materne asupra incidenței trisomiilor a fost dovedit în cazul sindromului Down (trisomia 21) dar efecte similare au fost identificate și în cazul trisomiilor 13 și 18.

Se presupune că efectul vârstei materne asupra incidenței trisomiilor are la bază două fenomene: reducerea ratei recombinărilor intracromosomice (crossing-over) în meioza I și formarea unui fus de diviziune anormal.

În ceea ce privește originea parentală a cromosomilor suplimentari sau absenți, observațiile efectuate, folosind markeri pentru ADN-ul centromeric, au arătat că majoritatea au origine maternă (de obicei eroarea survine în meioza I). Singura excepție este trisomia XYY care este exclusiv de origine paternă, provenind din nedisjuncția cromatidelor cromosomului Y în meioza II paternă.

VII.3.2.3. Consecințele mutațiilor genomice

Consecințele anomaliilor cromosomice numerice depind de mai mulți factori: ***tipul anomaliei, tipul cromosomului afectat și numărul de celule afectate.***

Poliploidiile, producând o modificare majoră a cantității de material genetic, sunt incompatibile cu viața la specia umană. În cazul triploidiilor efectele depind de originea setului suplimentar de cromosomi. Astfel, în cazul triploidiilor de origine paternă apare o *molă hidatiformă parțială*[72], în timp ce triploidiile de origine maternă se încheie prin avorturi spontane precoce, în primul trimestru de sarcină.

În cazul aneuploidiilor consecințele fenotipice depind de tipul anomaliei. Pierderea de material genetic (monosomia) este mai gravă decât surplusul de material genetic (trisomia).

[72] Mola hidatiformă constă în înlocuirea placentei normale cu o masă tisulară cu aspect de "ciorchine de strugure", rezultată prin supraproliferarea vilozităților corionice. Molele pot fi complete, când nu există nici făt și nici țesut placentar normal sau parțiale, când există resturi de placentă și un făt atrofic.

Monosomiile, exceptând o mică parte din cazurile cu monosomie X, sunt letale la specia umană, conducând la avort spontan.

În cazul *trisomiilor*, consecinţele fenotipice depind de tipul cromosomului implicat. Astfel, trisomiile cromosomilor mari sau a celor bogaţi în eucromatină sunt letale, în timp ce trisomiile cromosomilor mici sau a celor bogaţi în heterocromatină permit supravieţuirea produsului de concepţie, dar acesta va prezenta multiple malformaţii, ca urmare a alterării dozajului genic.

Studiile produşilor de avort spontan au relevat prezenţa tuturor trisomiilor, exceptând trisomia 1. Singurele trisomii autosomale complete viabile sunt trisomiile: 21, 18, 13 şi 8, de cele mai multe ori fiind prezentă o anomalie în mozaic.

Pe de altă parte, aneuploidiile autosomale sunt mai grave decât cele gonosomale. Acest fapt este determinat de două particularităţi ale gonosomilor:

- cromosomul Y conţine puţine gene şi multă heterocromatină (inactivă genetic) iar prezenţa a doi cromosomi Y nu modifică major fenotipul persoanei afectate;
- cromosomii X suplimentari se inactivează aproape în întregime, astfel încât prezenţa lor suplimentară nu modifică fenotipul în aceeaşi măsură ca şi trisomiile autosomale; această caracteristică a cromosomului X ar putea explica şi viabilitatea monosomiei X.

Un alt factor care influenţează fenotipul clinic al aneuploidiilor este numărul de celule afectate. Astfel, anomaliile *omogene* sunt mult mai grave decât anomaliile *în mozaic*, ultimele producând modificări cu atât mai mici, cu cât numărul de celule afectate este mai redus.

VII.3.3. MUTAŢIILE CROMOSOMICE

Mutaţiile cromosomice induc modificarea morfologiei şi/sau a conţinutului genic normal al unuia sau mai multor cromosomi, determinând anomalii cromosomice structurale. Dependent de gradul de modificare al fenotipului acestea pot fi echilibrate (fenotip normal) sau neechilibrate (fenotip anormal).

VII.3.3.1. Cauzele mutaţiilor cromosomice

Mutaţiile cromosomice sunt favorizate de expunerea postnatală (rareori prenatală) la agenţi mutageni fizici (radiaţii ionizante) chimici (substanţe alchilante) sau biologici (unele virusuri). Aceşti agenţi acţionează în timpul replicării ADN-ului (faza S a interfazei) şi determină rupturi în ambele catene ale ADN-ului (agenţi *clastogeni*) urmate de reunirea anormală a fragmentelor cromosomice.

Existența unor puncte (situsuri) fragile pe anumiți cromosomi favorizează rupturi specifice, neîntâmplătoare, cauzând anomalii structurale neechilibrate.

VII.3.3.2. Mecanismul de producre al mutațiilor cromosomice

VII.3.3.2.1. Anomalii cromosomice structurale echilibrate

Anomaliile cromosomice structurale echilibrate se caracterizează prin modificarea poziției unor segmente cromosomice, fără modificarea cantității totale de material genetic celular. Ele sunt de două tipuri: inversii și translocații.

INVERSIILE

Inversiile, abreviate *inv*, sunt rearanjamente care afectează un singur cromosom și se caracterizează prin modificarea (inversarea) poziției normale a unui segment cromosomic.

Inversiile rezultă prin ruperea cromosomului în două puncte, urmată de rotirea fragmentului intermediar cu 180^0 și reunirea fragmentelor. În funcție de localizarea punctelor de ruptură, inversiile se clasifică în:

- paracentrice – dacă cele două puncte de ruptură sunt situate pe același braț, iar fragmentul rotit nu conține centromerul (figura VII.8.a);
- pericentrice – dacă cele două puncte de ruptură sunt situate pe brațe diferite, iar fragmentul rotit conține centromerul (figura VII.8.b).

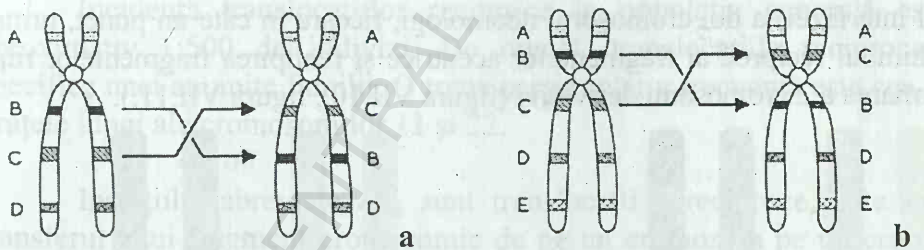


Figura VII.8. Mecanismul inversiilor
a: inversie paracentrică; b: inversie pericentrică

Inversiile sunt greu de identificat în absența marcajului cromosomic, deoarece, în general, nu modifică morfologia cromosomului implicat. Inversiile pericentrice de dimensiuni mai mari duc la schimbarea morfologiei și la pierderea similitudinii între omologi (figura VII.9.).

TRANSLOCAȚIILE

Ttranslocațiile se caracterizează prin transferul de segmente cromosomice între doi cromosomi. Există trei tipuri de translocații: *translocații reciproce, inserții și translocații prin fuziune centrică (Robertsoniene).*

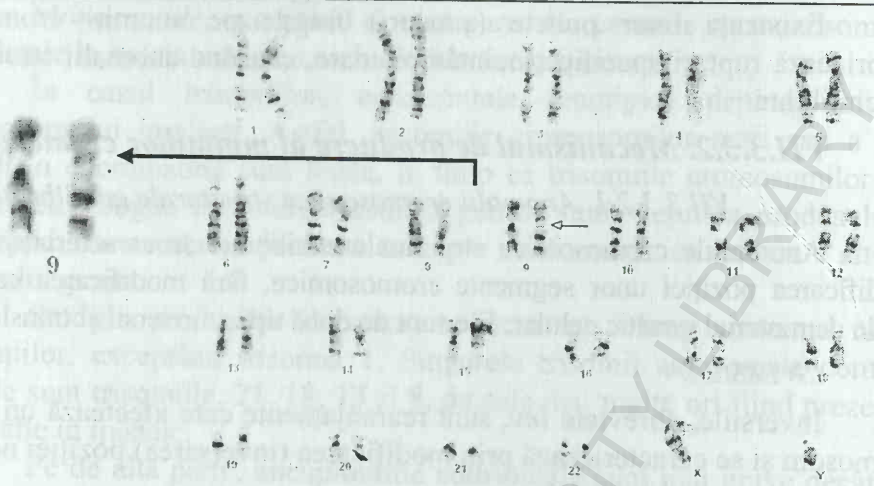


Figura VII.9. Exemplu de inversie – inversie pericentrică a cromosomului 9

Translocaţii reciproce

Translocaţiile reciproce, abreviate *t*, implică schimbul reciproc de fragmente cromosomice între doi cromosomi neomologi, cu formarea a doi cromosomi derivativi.

Mecanismul de formare al unei translocaţii reciproce implică ruperea (în cursul interfazei) a doi cromosomi neomologi, fiecare în câte un punct, urmată de schimbul reciproc al fragmentelor acentrice şi realipirea fragmentelor rupte cu formarea a 2 cromosomi derivativi (figura VII.10., figura VII.11.).

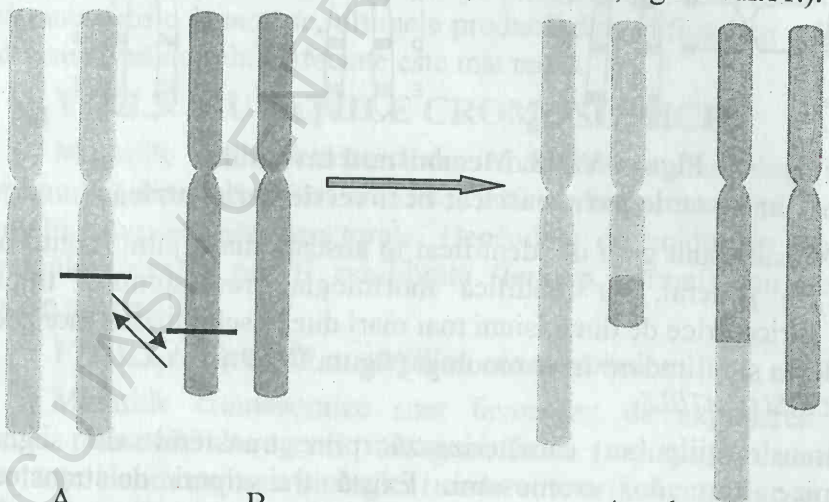


Figura VII.10. Mecanismul de producere al unei translocatii reciproce

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

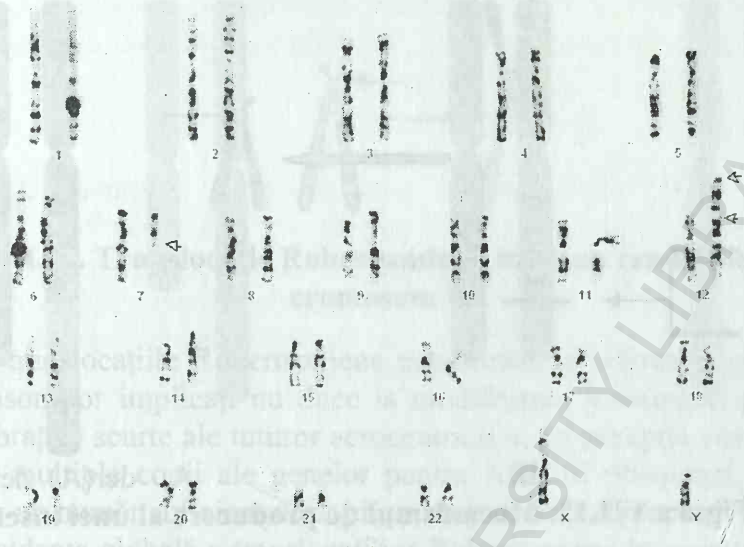


Figura VII.11. Exemplu de translocație reciprocă echilibrată – translocație (7;12)

Când fragmentele schimbate au dimensiuni aproximativ egale, anomalia nu poate fi depistată decât utilizând marcajul cromosomic de înaltă rezoluție, cariotiparea spectrală sau tehnica FISH pentru *translocații minime*.

Incidența translocațiilor reciproce în populația generală este de aproximativ 1:500 de indivizi. De regulă, translocațiile reciproce sunt specifice unei anumite familii. O translocație relativ frecventă este cea dintre brațele lungi ale cromosomilor 11 şi 22.

Inserții

Inserțiile, abreviate *ins*, sunt translocații nereciproce, care implică transferul unui fragment cromosomic de pe un cromosom pe un cromosom neomolog.

Mecanismul de apariție al anomaliei constă în ruperea a doi cromosomi neomologi, dar necesită trei puncte de ruptură, două pe un cromosom şi unul pe celălalt cromosom.

Fragmentul liber al cromosomului cu două rupturi este transferat la nivelul punctului de ruptură al celui de-al doilea cromosom (figura VII.12.).

Inserarea fragmentului translocat se poate realiza în poziție normală (figura VII.13.) sau inversat.

Translocații robertsoniene

Translocațiile Robertsoniene, abreviate *rob*, sunt anomalii echilibrate care afectează doar cromosomii acrocentrici, exceptând cromosomul Y (figura VII.14.).

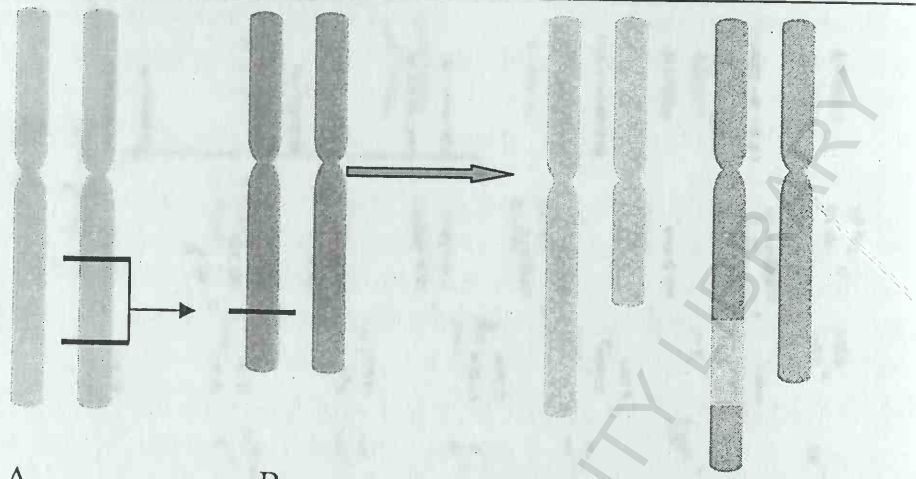


Figura VII.12. Mecanismul de producere al unei inserții

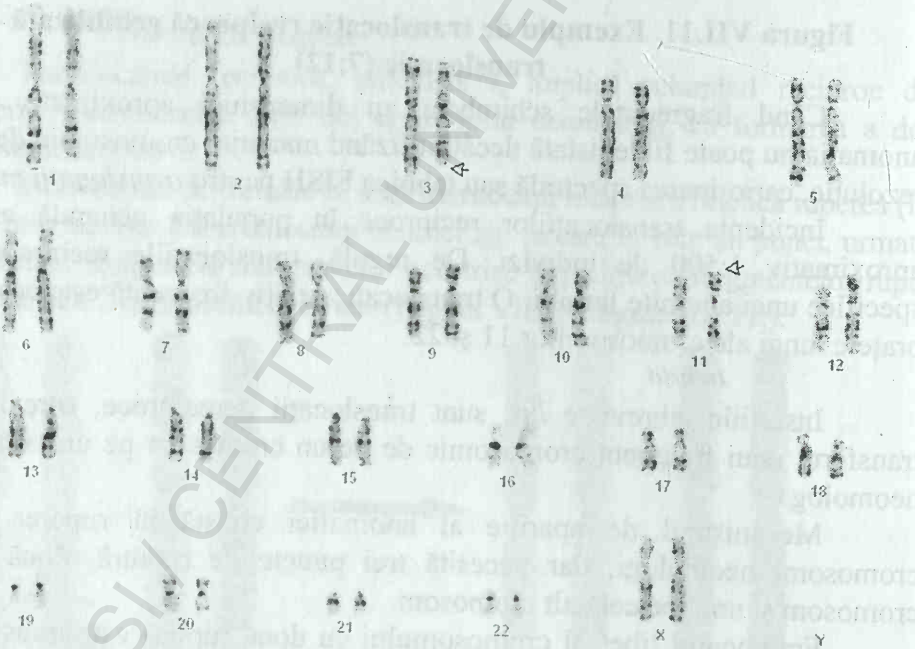


Figura VII.13. Exemplu de inserție – inserție (3;11)

Mecanismul de producere al anomaliei este reprezentat de ruperea a doi cromosomi acrocentrici la nivelul centromerelor sau foarte aproape de acestea pe brațele scurte, urmată de pierderea brațelor scurte și unirea brațelor lungi într-un cromosom derivativ. Ca urmare, se produce o modificare a numărului de cromosomi care se reduce de la 46 la 45.

UMF IAȘI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

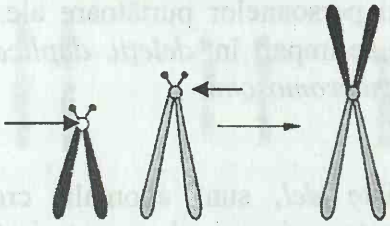


Figura VII.14. Translocație Robertsoniană între un cromosom G şi un cromosom D

În translocațiile Robertsoniene echilibrate, pierderea brațelor scurte ale cromosomilor implicați nu duce la modificarea fenotipului pacienților, deoarece brațele scurte ale tuturor acrocentricilor, cu excepția cromosomului Y, conțin multiple copii ale genelor pentru ARN-ul ribosomal, gene care rămân într-un număr suficient de copii pe cromosomii acrocentrici normali.

Incidența globală a translocațiilor Robertsoniene în populație este de aproximativ 1/1000 de indivizi. Cea mai frecventă translocație de acest tip este cea dintre cromosomii 13 şi 14 - rob(13q14q). Un exemplu de translocație Robertsoniană este prezentat în figura VII.15.

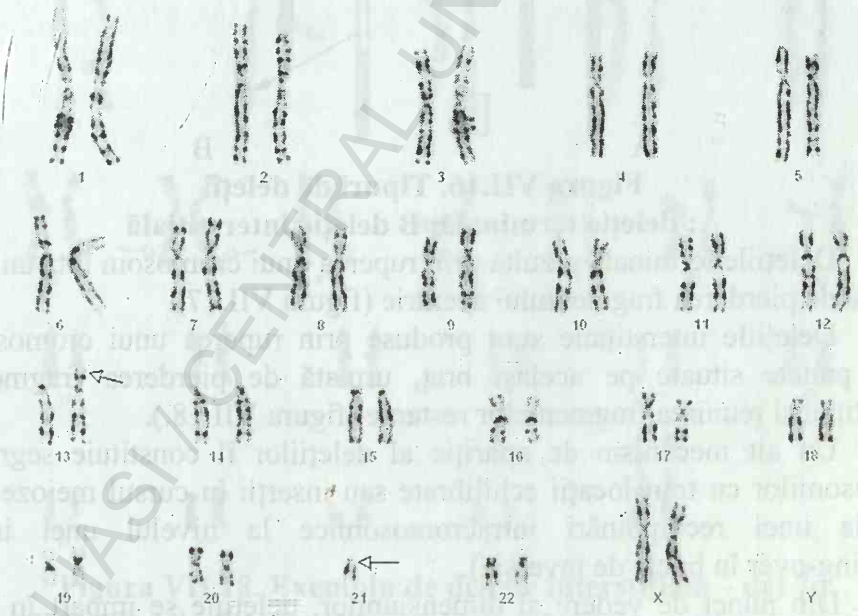


Figura VII.15. Exemplu de translocație Robertsoniană echilibrată – translocație rob(21q;13q)

VII.3.3.2.2. Anomalii cromosomice structurale neechilibrate

Anomaliile cromosomice structurale neechilibrate se caracterizează printr-o modificare a cantității totale de material genetic, ceea ce induce o

BUCUREŞTI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

modificare a fenotipului persoanelor purtătoare ale anomaliei. Anomaliile structurale neechilibrate se împart în: *deleţii, duplicaţii, cromosomi inelari, cromosomi dicentrici şi isocromosomi.*

DELEŢIILE

Deleţiile, abreviate *del*, sunt anomalii cromosomice structurale neechilibrate, caracterizate prin pierderea unui fragment cromosomic. Rezultatul acestei pierderi este apariţia unei monosomii parţiale. Pentru evidenţierea deleţiilor este necesară, fie aplicarea marcajului cromosomic, de preferinţă a celui de înaltă rezoluţie, fie folosirea unor sonde FISH pentru regiunea presupusă a fi absentă din cariotipul individului.

Din punct de vedere al localizării segmentului absent, deleţiile se clasifică în: ***deleţii terminale*** şi ***deleţii interstiţiale*** (figura VII.16.).

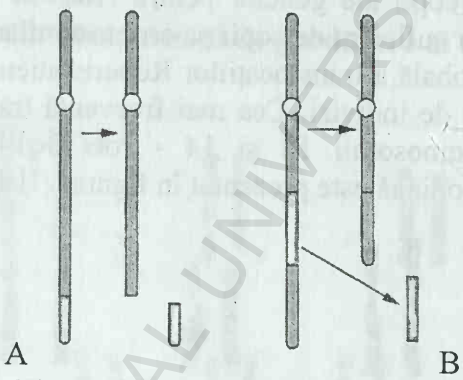


Figura VII.16. Tipuri de deleţii
A: deleţie terminală; B deleţie interstiţială

Deleţiile terminale rezultă prin ruperea unui cromosom într-un punct, urmată de pierderea fragmentului acentric (figura VII.17).

Deleţiile interstiţiale sunt produse prin ruperea unui cromosom în două puncte situate pe acelaşi braţ, urmată de pierderea fragmentului interstiţial şi reunirea fragmentelor restante (figura VII.18.).

Un alt mecanism de apariţie al deleţiilor îl constituie segregarea cromosomilor cu translocaţii echilibrate sau inserţii în cursul meiozei I sau apariţia unei recombinări intracromosomice la nivelul unei inversii (crossing-over în bucla de inversie).

Din punct de vedere al dimensiunilor, deleţiile se împart în ***deleţii microscopice*** şi ***deleţii submicroscopice***.

Deleţiile microscopice pot fi observate prin tehnici de citogenetică cu marcaj cromosomic. În practică cele mai frecvente deleţii sunt cele localizate pe braţele scurte ale cromosomilor 4 (sindromul Wolf Hirschhorn) şi 5 (sindromul *cri du chat*) şi cele de pe braţul lung al cromosomului 18.

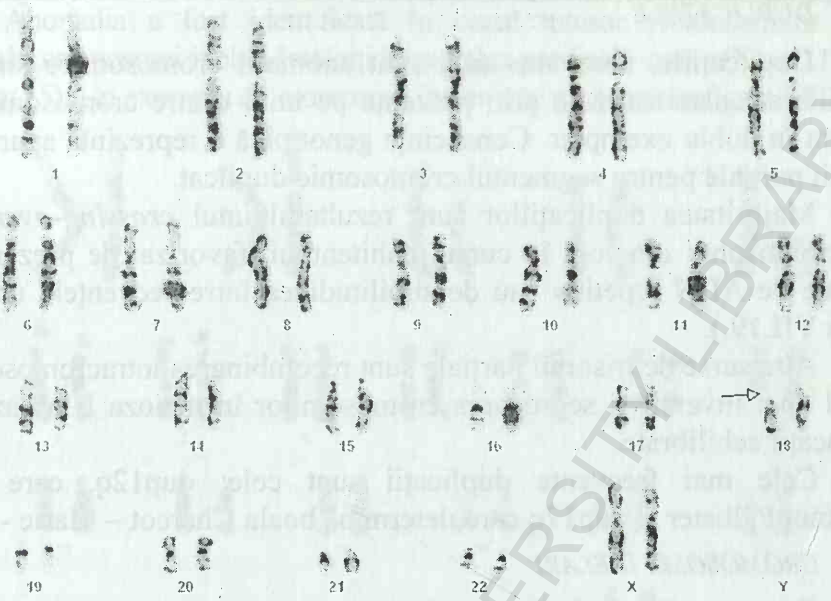


Figura VII.17. Exemplu de deleție terminală – del 18p

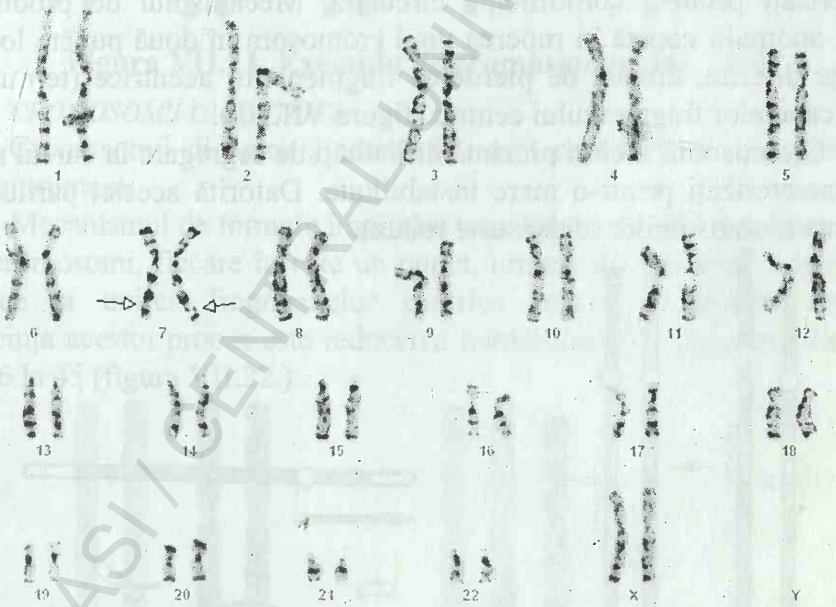


Figura VII.18. Exemplu de deleție interstițială – del 7q

Deleţiile submicroscopice sau ***microdeleţiile*** nu pot fi vizualizate decât prin tehnici de marcaj de înaltă rezoluţie sau prin tehnica FISH. Datorită perfecţionării tehnicilor de citogenetică a devenit posibilă stabilirea etiologiei cromosomice a numeroase sindroame malformative produse prin microdeleţii. Aceste sindroame au fost denumite şi ***sindroame ale genelor contigue***, deoarece microdeleţia produce pierderea mai multor gene învecinate.

BCU IAȘI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

DUPLICAŢIILE

Duplicaţiile, abreviate *dup*, sunt anomalii cromosomice structurale neechilibrate, caracterizate prin prezenţa pe unul dintre cromosomi a unui segment în dublu exemplar. Consecinţa genotipică o reprezintă apariţia unei trisomii parţiale pentru segmentul cromosomic duplicat.

Majoritatea duplicaţiilor sunt rezultatul unui ***crossing-over inegal*** între cromosomii omologi în cursul pahitenului, favorizat de prezenţa unor secvenţe de ADN repetitiv sau de similitudinea între secvenţele unor gene (figura VII.19.).

Alte surse de trisomii parţiale sunt recombinarea intracromosomică la nivelul unei inversii şi segregarea cromosomilor în meioza I în cazul unor translocaţii echilibrate.

Cele mai frecvente duplicaţii sunt cele: dup12q, care produc sindromul Pallister şi dup17q care determină boala Charcot – Marie - Tooth.

CROMOSOMII INELARI

Cromosomii inelari, notaţi cu *r*, sunt cromosomi anormali, caracterizaţi printr-o conformaţie circulară. Mecanismul de producere al acestei anomalii constă în ruperea unui cromosom în două puncte localizate pe braţe diferite, urmată de pierderea fragmentelor acentrice (terminale) şi unirea capetelor fragmentului centric (figura VII.20.).

Cromosomii inelari prezintă dificultăţi de segregare în cursul mitozei, fiind caracterizaţi printr-o mare instabilitate. Datorită acestei particularităţi frecvenţa cromosomilor inelari este redusă.

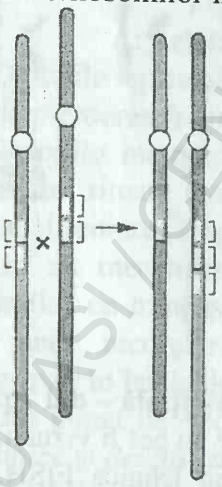


Figura VII.19. Mecanismul de formare a unei duplicaţii prin crossing-over inegal

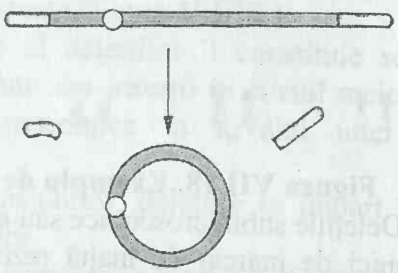


Figura VII.20. Mecanismul de formare al unui cromosom inelar

BUCUREŞTI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Anomalia a fost identificată în cazul tuturor cromosomilor umani. Principalii cromosomi inelari întâlniți în practica medicală sunt: r(X), r(21), r(18), r(22) şi r(15). Un exemplu de cromosom inelar este prezentat în figura VII.21.

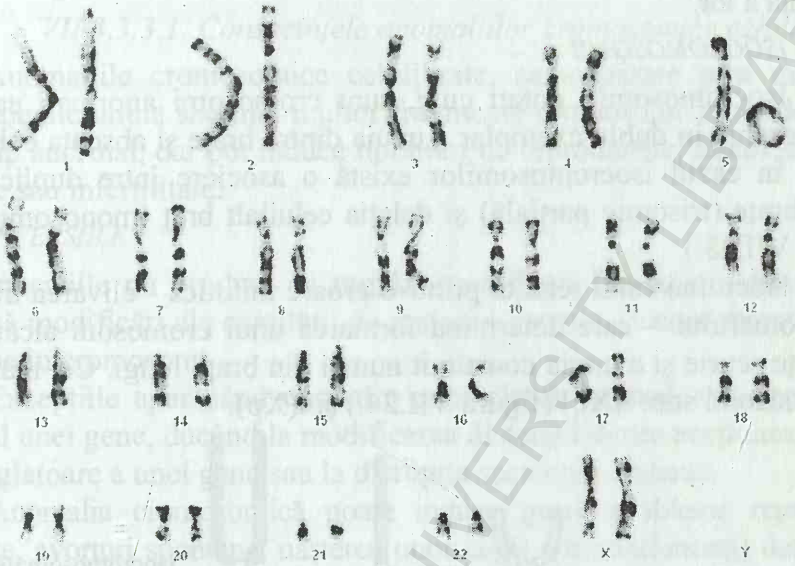


Figura VII.21. Exemplu de cromosom inelar – r(5)

CROMOSOMII DICENTRICI

Cromosomii dicentrici, notați *dic*, sunt caracterizați prin prezența a două centromere.

Mecanismul de formare implică o translocație neechilibrată, cu ruperea a doi cromosomi, fiecare în câte un punct, urmată de pierderea fragmentelor acentrice şi unirea fragmentelor centrice într-un cromosom derivativ. Consecința acestui proces este reducerea numărului de cromosomi din celulă de la 46 la 45 (figura VII.22.).

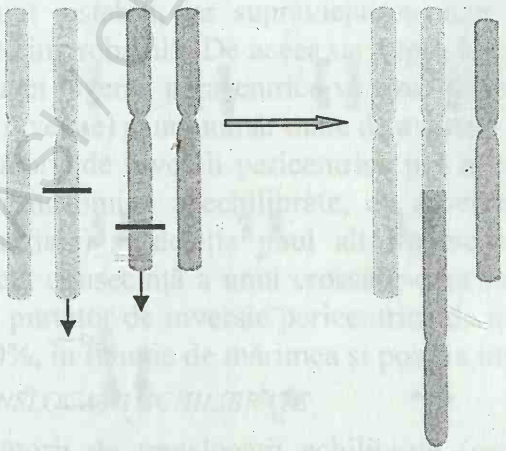


Figura VII.22. Mecanismul de formare al unui cromosom dicentric

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

În cazul în care ambele centromere rămân active, cromosomii dicentrici prezintă anomalii de ataşare la fibrele fusului de diviziune şi dificultăţi de segregare în cursul diviziunii, ceea ce conduce la dispariţia frecventă a lor.

ISOCROMOSOMII

Isocromosomii, notaţi cu *i*, sunt cromosomi anormali caracterizaţi prin prezenţa în dublu exemplar a unuia dintre braţe şi absenţa celuilalt braţ. Astfel, în cazul isocromosomilor există o asociere între duplicaţia unuia dintre braţe (trisomie parţială) şi deleţia celuilalt braţ (monosomie parţială) (figura VII.23.).

Isocromosomii rezultă printr-o eroare mitotică - clivarea transversală a centromerului – care determină formarea unui cromosom alcătuit numai din braţe scurte şi a unuia constituit numai din braţe lungi. Cei mai frecvenţi isocromosomi sunt i(Xq) (figura VII.24.) şi i(Xp).

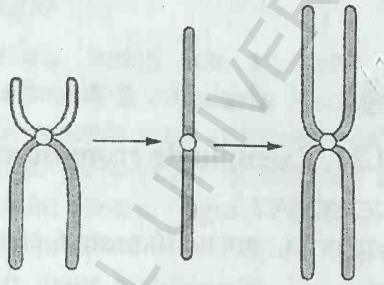


Figura VII.23. Formarea unui isocromosom de braţ lung

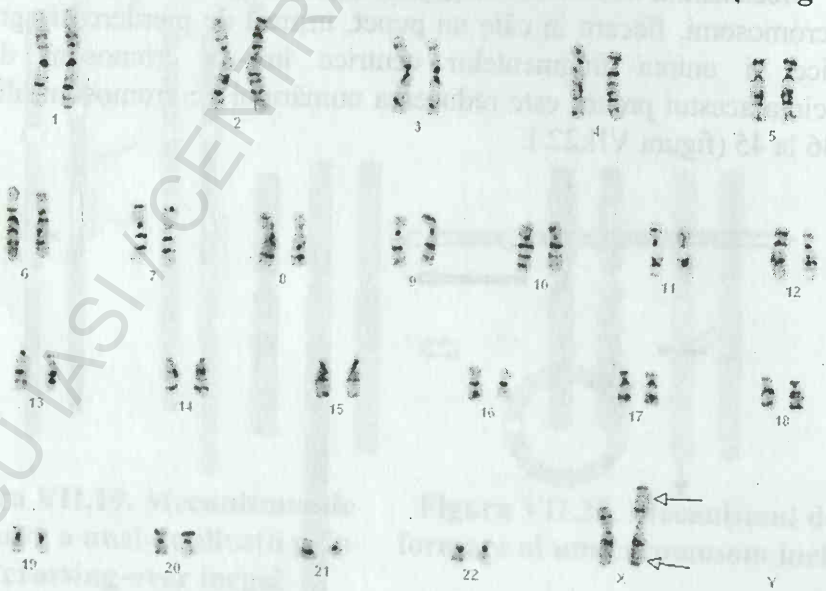


Figura VII.24. Exemplu de isocromosom – i(Xq)

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

VII.3.3.3. Consecințele mutațiilor cromosomice

Consecințele mutațiilor cromosomice depind de tipul modificării materialului genetic.

VII.3.3.3.1. Consecințele anomaliilor cromosomice echilibrate

Anomaliile cromosomice echilibrate, caracterizate prin modificări poziționale ale unuia sau mai multor fragmente cromosomice, nu determină un fenotip anormal, dar pot induce tulburări de reproducere, manifestate prin sterilitate sau infertilitate.

INVERSIILE

Inversiile nu produc, de regulă, modificări fenotipice, deoarece nu determină modificări ale cantității de material genetic, ci doar repoziționarea unor gene în cromosom.

Excepțiile apar când unul din punctele de ruptură este localizat în interiorul unei gene, ducând la modificarea distanței dintre porțiunea centrală și cea reglatoare a unei gene sau la disrupția secvenței codante.

Anomalia cromosomică poate induce grave probleme reproductive (sterilitate, avorturi spontane, naşterea unor copii plurimalformați) determinate de recombinarea intracromosomică în regiunea cu inversie. Datorită faptului că genele nu mai sunt poziționate normal, sinapsa între cromosomii omologi nu se poate face corect ("genă la genă") decât dacă cromatida cu inversie formează o buclă la nivelul inversiei. Producerea unui crossing-over la acest nivel are consecințe diferite în raport cu tipul de inversie.

În cazul inversiilor paracentrice, prin crossing-over la nivelul zonei inversate rezultă doi cromosomi recombinanți anormali: unul dicentric şi altul acentric. Fragmentul acentric se pierde la următoarea diviziune, deoarece este lipsit de centromer şi nu se poate ataşa la fusul de diviziune. Cromosomii dicentrici sunt instabili, iar supraviețuirea unui embrion cu un cromosom dicentric este improbabilă. De aceea un cuplu în care unul dintre membri este purtător al unei inversii paracentrice va avea doar copii sănătoşi (normali sau purtători de inversie) şi un număr mare de avorturi spontane repetate.

Purtătorii de inversii pericentrice pot avea descendenți anormali, cu anomalii cromosomice neechilibrate, ce asociază duplicația unui segment (trisomie parțială) şi deleția unui alt fragment cromosomic (monosomie parțială) drept consecință a unui crossing-over la nivelul buclei de inversie. Riscul unui purtător de inversie pericentrică de a avea un descendent afectat este de 1-10%, în funcție de mărimea şi poziția inversiei.

TRANSLOCAȚII ECHILIBRATE

Purtătorii de translocații echilibrate (reciproce, Robertsoniene sau inserții) au fenotip normal, deoarece anomalia nu modifică cantitatea totală

de material genetic. În schimb, pot apărea tulburări de reproducere, determinate de modul de segregare a cromosomilor în cursul meiozei I.

Translocaţiile reciproce determină blocarea spermatogenezei, ceea ce face ca bărbaţii purtători să fie sterili. Femeile purtătoare pot avea o fertilitate redusă, indusă de alterarea împerecherii cromosomilor omologi în zigoten. Mecanismul de producere al malsegregării cromosomilor derivativi în cazul unei translocaţii reciproce echilibrate este prezentat în figura VII.25. şi tabelul VII.4.

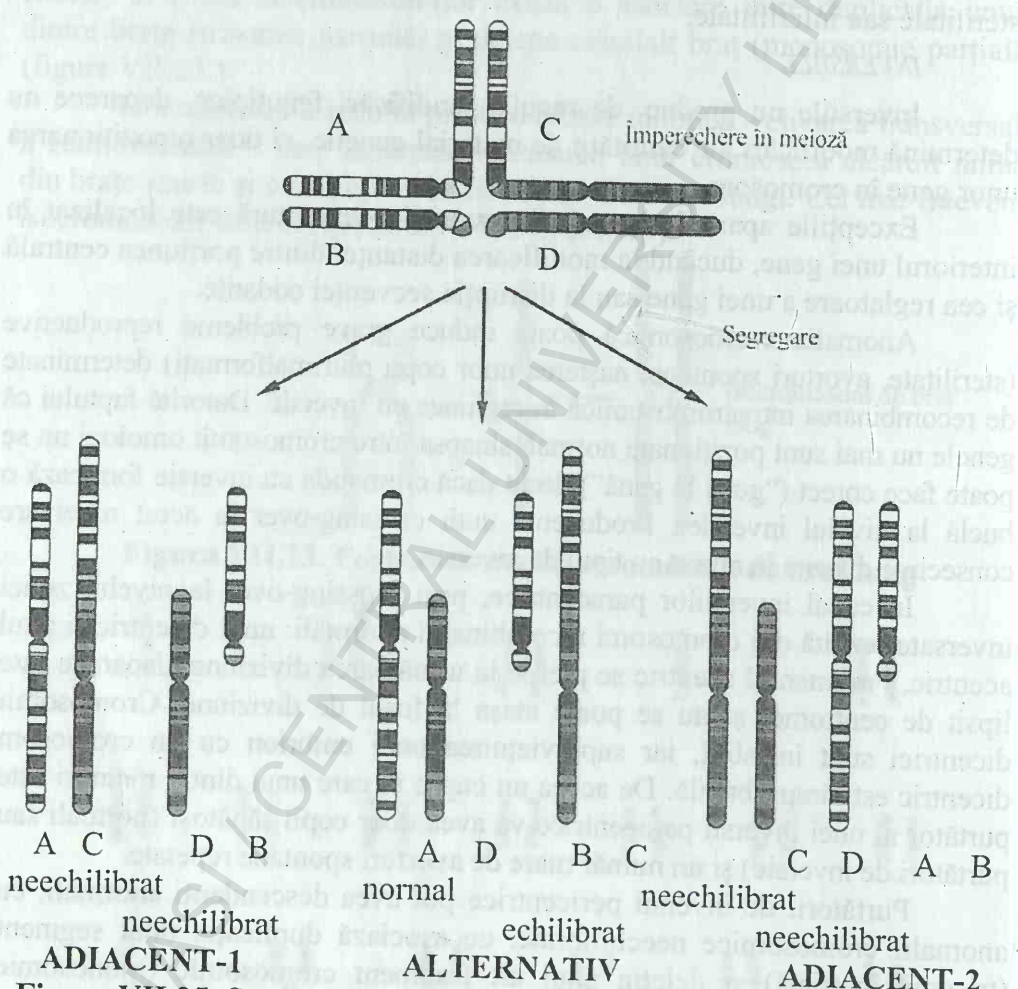


Figura VII.25. Segregarea 2:2 a cromosomilor 3 şi 11 în cazul existenţei unei translocaţii t(3;11)(q12;p15.5) (după Thompson, 1991)

În cursul meiozei I, datorită translocaţiei, cromosomii omologi formează o sinapsă specială, numită ***cvadrivalent***, cu aspect de cruce. În cadrul acestei structuri se produce alinierea regiunilor omologe ale

BCU CLUJ / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

cromosomilor implicați în translocație. În cursul anafazei I, când se produce segregarea cromosomilor omologi, cromosomii angajați în cvadrivalent pot urma trei căi de segregare: 2:2; 3:1; 4:0. Ultimele două căi, complet dezechilibrate, sunt foarte rare şi conduc la gameți cu anomalii genetice majore, incompatibile cu supraviețuirea. Segregarea 2:2 se poate face în trei moduri: ***alternativ, adiacent-1*** şi ***adiacent-2***.

Tabelul VII.4. Tipuri de segregare a cromosomilor implicați în translocații reciproce (vezi figura VII.25.)

Tip de segregare	Cromosomi segregați	Embrion
2:2		
Alternativ	A + D	normal
	B + C	translocație echilibrată
Adiacent-1	A + C	asociere de monosomie parțială şi trisomie parțială
	B + D	
Adiacent-2	A + B	asociere de monosomie parțială şi trisomie parțială
	C + D	
3:1		
	A + B + C A + B + D A + C + D B + C + D	Trisomie completă
	D C B A	Monosomie completă

În cazul segregării alternative, cromosomii normali migrează la un pol al fusului de diviziune, la celălalt pol deplasându-se cromosomii cu translocație. Astfel, prin fecundarea acestor gameți rezultă, fie zigoți normali, fie zigoți purtători ai translocației echilibrate.

În segregarea adiacentă-1 centromerii neomologi segregă împreună, în timp ce în segregarea adiacentă-2 se produce segregarea centromerilor omologi. În ambele tipuri de segregare rezultă gameți anormali, care prin fecundare vor conduce la zigoți ce asociază trisomia parțială a unuia dintre cromosomi cu monosomia parțială a celuilalt cromosom.

În translocațiile reciproce riscul teoretic de apariție a unor descendenți anormali este ridicat - 50% - dar riscul practic de apariție a unor copii cu anomalii cromosomice neechilibrate este de 1-10%, dependent de tipul translocației, deoarece majoritatea zigoților neechilibrați sunt neviabili.

În cazul *inserţiilor*, anomalia nu modifică fenotipul purtătorului, dar poate conduce la tulburări de reproducere datorite malsegregării cromosomilor derivativi în cursul meiozei I. Astfel, un individ purtător al unei translocaţii cu inserţie poate avea copii normali, copii purtători ai anomaliei echilibrate, copii cu monosomie parţială şi copii cu trisomie parţială.

Translocaţiile Robertsoniene, deşi nu afectează fenotipul, pot produce grave probleme de reproducere, datorită malsegregării cromosomilor derivativi în cursul meiozei. Riscul de apariţie a unor descendenţi anormali este diferit în funcţie de tipul cromosomilor implicaţi în transclocaţie: omologi sau neomologi.

În cazul unei translocaţii între cromosomi neomologi, de exemplu între cromosomii 14 şi 21 pot rezulta 6 tipuri de gameţi (figura VII.26.).

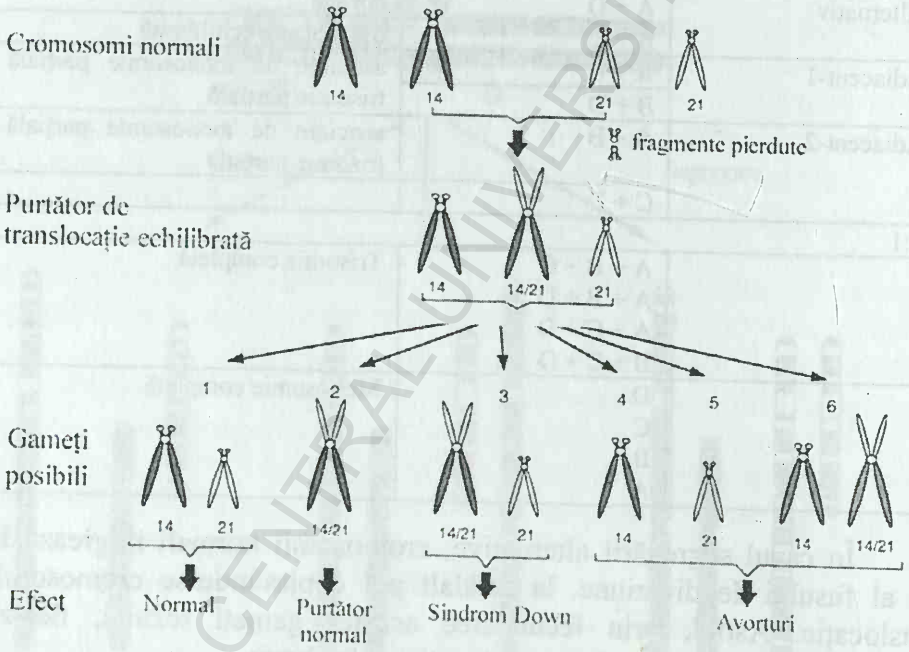


Figura VII.26. Mecanismul de producere şi efectele reproductive ale unei translocaţii Robertsoniene, rob(14q21q)

Prin fecundarea acestor gameţi cu gameţi normali rezultă şase tipuri de zigoţi: normal, echilibrat cu translocaţie Robertsoniană, anormali cu trisomie 21, anormali cu trisomie 14, anormali cu monosomie 21 şi anormali cu monosomie 14. Ultimii trei embrioni sunt neviabili şi sunt eliminaţi prin avorturi spontane. În situaţia prezentată mai sus riscul teoretic de apariţie al unui copil cu fenotip de sindrom Down (determinat de trisomia 21) este de 33%. Riscul real este mai mic, deoarece o parte din embrionii cu trisomie 21 sunt eliminaţi prin avort spontan.

Riscul unui purtător de translocație Robertsoniană de avea un copil cu sindrom Down depinde de sexul purtătorului. În cazul femeilor riscul este de 10%, în timp ce la bărbați riscul este de 1-3%, deoarece anomalia blochează de obicei spermatogeneza.

O situație specială se întâlnește în cazul purtătorilor unei translocații Robertsoniene între cromosomi omologi. De exemplu, în cazul unei translocații Robertsoniene între doi cromosomi 21 cromosomul derivativ va segrega într-unul din gameți, care va avea o disomie 21, în timp ce celălalt gamet rezultat din meioză va prezenta o nulisomie 21. Prin fecundare cu un gamet normal se pot forma doar două tipuri de zigoți: cu trisomie 21 sau cu monosomie 21. Produșii de concepție cu monosomie 21 nu sunt viabili și sunt eliminați prin avort spontan, astfel încât un purtător de translocație Robertsoniană între cromosomii 21 poate avea doar copii anormali cu trisomie 21. Acest caz constituie una din puținele situații în care riscul de recurență al unei afecțiuni genetice este de 100%.

VII.3.3.3.2. Consecințele anomaliilor cromosomice neechilibrate

Anomaliile cromosomice neechilibrate, fiind caracterizate printr-o modificare a cantității totale de material genetic, determină o anomalie de ***dozaj genic***, care induce modificarea fenotipului, cu apariția unor sindroame cromosomice. Se consideră că orice monosomie parțială (determinată de pierderea – deleție - de material genetic) ce depășește 2% din cantitatea de material genetic al unui set haploid de cromosomi este letală. Efectul fenotipic este mai important dacă monosomia parțială se asociază cu o trisomie parțială a unui alt segment cromosomic. Pe de altă parte, o trisomie parțială este letală dacă depășește 4% din cantitatea de material genetic al unui set haploid de cromosomi.

Anomaliile cromosomice structurale neechilibrate determină un dezechilibru cantitativ al materialului genetic (în plus sau în minus) ce se manifestă fenotipic asemănător anomaliilor numerice.

Indiferent de cromosomul afectat, toate anomaliile cromosomice neechilibrate viabile prezintă o serie de trăsături comune:

- tulburări de creștere și dezvoltare pre- și postnatal;
- sindrom plurimalformativ, specific fiecărei anomalii în parte;
- retard psiho-motor;
- tulburări de reproducere, manifestate prin: sterilitate, avorturi repetate sau naștere de copii plurimalformați morți sau vii.

VII.3.4. MUTAȚIILE GENICE NUCLEARE

Mutațiile genice sunt modificări ale secvenței de nucleotide ale unei molecule de ADN, care pot afecta de la o singură pereche de baze azotate,

până la câteva mii de perechi de baze azotate, dar a căror dimensiune este mai mică decât limita de rezoluţie a tehnicilor citogenetice clasice.

VII.3.4.1. Originea mutaţiilor genice

Mutaţiile genice pot fi consecinţa a două categorii de evenimente: ***erori ale replicării ADN-ului*** şi ***erori de reparare a leziunilor ADN-ului.***

VII.3.4.1.1. Erori de replicare a ADN-ului

În cursul replicării ADN-ului se produc erori de asociere a bazelor azotate, erori de excizie a bazelor azotate incorect poziţionate sau rupture ale ADN-ului replicat.

În cursul replicării, ADN-polimeraza asigură sinteza unei noi catene de ADN cu o precizie deosebită, astfel încât apare o eroare de asociere doar o dată la 10 milioane de perechi de baze azotate. Totuşi, dacă această rată mutaţională ar fi reală, numărul de mutaţii genice, generat în cursul fiecărei mitoze ar fi enorm, ceea ce ar determina dispariţia speciei.

Din fericire organismul posedă un mecanism de autoprotecţie care recunoaşte şi îndepărtează erorile produse. Acest mecanism de corecţie este denumit ***replicare autoreparabilă***. Mecanismul este reprezentat de acţiunea unor enzime care recunosc bazele azotate incorect poziţionate de pe catena nou sintetizată, "taie" catena la nivelul acestora îndepărtându-le şi, în final, le înlocuieşte cu bazele azotate corecte. Datorită acestui proces de autocontrol rata mutaţiilor generate de erorile de replicare este mai mică de 10^{-10} per pereche de baze azotate per diviziune. Ţinând cont de faptul că genomul uman conţine doar 6×10^9 perechi de baze, este clar că prin erori de replicare nu apar mutaţii la fiecare diviziune celulară.

VII.3.4.1.2.Erori de reparare a leziunilor ADN-ului

În afara erorilor de replicare, mutaţiile genice pot fi şi consecinţa acţiunii unor factori ambientali, precum radiaţiile ionizante (X, γ) sau ultraviolete, respectiv unele substanţe chimice (naturale sau sintetice). În plus, la nivelul catenelor de ADN se pot produce reacţii chimice spontane, de tipul depurinării, demetilării sau deaminării, care modifică diverse baze azotate.

Aceste modificări ale structurii ADN-ului nu pot fi recunoscute de mecanismele de corecţie ale organismului şi constituie mutaţii permanente, care se transmit în succesiunea generaţiilor celulare (în cazul în care apar într-un ţesut somatic) sau în succesiunea generaţiilor de organisme (când apar la nivelul liniilor germinale).

VI.3.4.2. Mecanismele de producere şi efectele mutaţiilor genice

Mutaţiile genice pot fi grupate în trei mari categorii: ***substituţii nucleotidice*** (mutaţii punctiforme) ***deleţii/ inserţii*** şi ***mutaţii dinamice.***

Efectele mutațiilor genice depind de mai mulți factori. Un prim factor îl reprezintă dimensiunea fragmentului genic modificat. Astfel, de regulă deleţiile sau inserţiile, în special când interesează fragmente mari, au efecte fenotipice mult mai importante decât substituţiile. Totuşi, apariţia unei substituţii la nivelul unui situs genic esenţial poate avea efecte fenotipice deosebit de importante. Un exemplu în acest sens este mutaţia GAG→GTG la nivelul codonului 6 al genei β-globinei, care determină drepanocitoza datorită unei modificări minore la nivelul catenei β a hemoglobinei (înlocuirea acidului glutamic cu valina la nivelul poziţiei 6 a secvenţei de aminoacizi a catenei proteice).

Un alt factor care influenţează efectul unei mutaţii genice este regiunea genică la niveul căreia se produce mutaţia. Astfel, mutaţiile exonice sau cele produse la nivelul regiunilor reglatoare genice au efecte fenotipice mult mai importante decât cele care au loc la nivelul intronilor.

VII.3.4.2.1. Substituţiile genice

Substituţiile genice sunt ***mutaţii punctiforme***, deoarece modifică doar o singură bază azotată de la nivelul unui singur codon. Ele sunt denumite şi ***mutaţii missens***, deoarece determină schimbarea unui singur aminoacid din structura proteinei codificate de gena mutantă.

Mutaţiile punctiforme au fost depistate în majoritatea bolilor umane, reprezentând aproximativ jumătate din mutaţiile genice. În hemoglobinopatii, aproape toate mutaţiile identificate au fost de tip substituţie.

Efectul substituţiilor asupra fenotipului depinde de regiunea genică în care s-a produs mutaţia (figura VII.27.):

Mutaţiile exonice se pot produce la nivelul unui codon sens sau a unui codon stop. *Mutaţiile codonilor sens* pot avea următoarele consecinţe:

Transformarea codonului respectiv într-un codon sens sinonim. Deoarece codul genetic este degenerat[73] de multe ori un codon sens este transformat într-un codon sens, care codifică acelaşi aminoacid. De exemplu, o substituţie de tipul UUU→UUC sau una de tipul UUA→UUG nu au nici un efect fenotipic, deoarece în primul caz ambii codoni codifică fenilalanina, în timp ce în al doilea caz ambii codoni codifică leucina.

Transformarea codonului modificat într-un alt codon sens duce la înlocuirea aminoacidului normal cu un alt aminoacid, efectele mutaţiei depinzând de importanţa funcţională a aminoacidului.

Astfel, mutaţiile care afectează aminoacizi localizaţi la nivelul unor situsuri funcţionale (de fixare a altor proteine sau de formare a legăturilor intra- sau intercatenare) sunt deosebit de grave, un exemplu în acest sens

[73] Vezi capitulul **Expresia informaţiei genetice**

fiind drepanocitoza. Pe de altă parte substituţia unui aminoacid din afara situsurilor funcţionale, în special când aminoacidul nou introdus are o structură similară cu cel înlocuit, poate avea efecte minime sau chiar să nu aibă nici un efect asupra funcţiei proteinei.

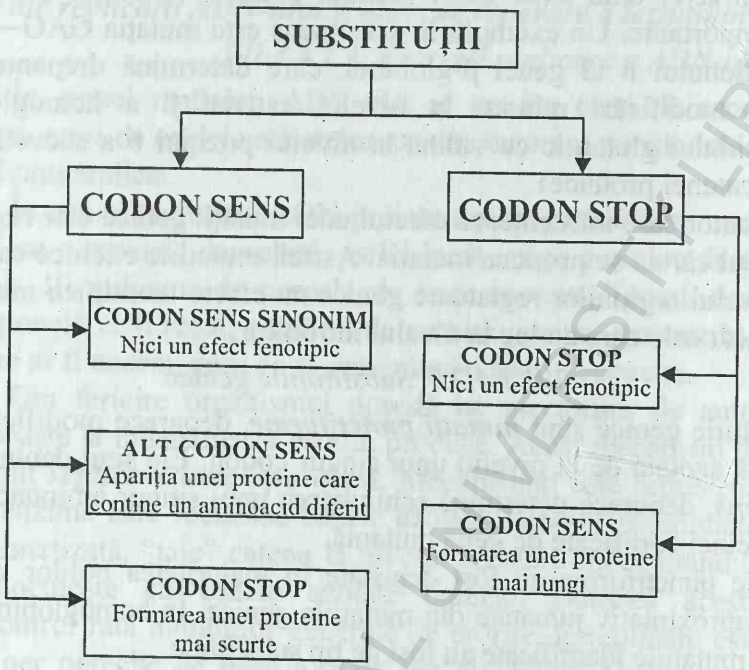


Figura VII.27. Tipuri de mutaţii exonice

Transformarea codonului sens într-un codon stop - ***mutaţie nonsens*** – determină încheierea prematură a transcripţiei şi a translaţiei, ceea ce conduce la sinteza unei proteine mai scurte, de obicei instabile sau cu funcţie anormală, astfel că efectele fenotipice sunt deosebit de grave.

Mutaţiile codonilor stop pot avea următoarele efecte. Transformarea codonului stop într-un codon sinonim (de exemplu, TGA→TAA) nu are nici un efect fenotipic, deoarece noul codon este tot un codon stop, iar proteina sintetizată va fi normală. Transformarea codonului stop într-un codon sens determină sinteza unei proteine mai lungi, deoarece citirea informaţiei genetice va continua până când se va ajunge la următorul codon stop.

Mutaţiile intronice de cele mai multe ori nu au nici un efect fenotipic, deoarece secvenţa nucleotidică a intronilor nu este translată.

Excepţiile sunt reprezentate de mutaţiile care afectează balizele dinucleotidice de semnalizare (GT şi AG) localizate la cele două capete ale intronilor, a căror modificare induce dispariţia unor introni sau formare de introni noi (figura VII.28.).

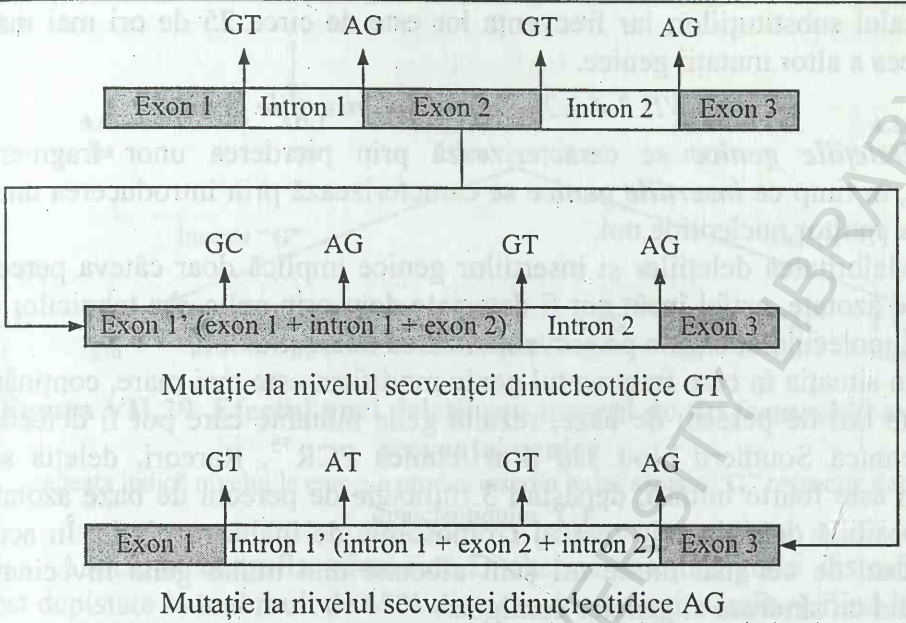


Figura VII.28. Efectul mutațiilor intronice la nivelul balizelor de semnalizare localizate la capetele intronilor

O altă situație în care mutațiile intronice produc efecte fenotipice este reprezentată de cazurile în care mutația determină formarea unor balize noi de semnalizare, ceea ce generează apariția de noi introni

Mutațiile la nivelul regiunii reglatoare pot avea efecte deosebit de grave când modifică situsuri esențiale pentru reglarea activității genice.

Modificarea secvențelor tetranucleotidice **TATA** şi **CAAT,** de la nivelul regiunii promotor al genelor cu specificitate tisulară, pot determina blocarea transcripției genei respective, împiedicând fie fixarea ARN-polimerazei II, fie atașarea factorilor proteici transcripționali.

Substituțiile în situsul de specificitate tisulară pot cauza activarea anormală a unei gene în alt țesut sau blocarea activării genei în țesutul normal.

Modificările situsului de modulare a activității genice pot determina fie o activare, fie o inhibare anormală a activității genei respective[74];

În unele gene au fost depistate ***"puncte fierbinți"*** (*"hot spots"*), de obicei localizate la nivelul "insulelor" dinucleotidice 5'-CG-3' (*CpG*). Mutațiile la nivelul acestor "insule" sunt implicate în numeroase boli umane. Acest fenomen este determinat de metilarea citozinei, când aceasta este situată în vecinătatea unei guanine, cu formarea de metil-citozină, care prin dezaminare spontană se transformă în timină. Astfel dubletele CG constituie "puncte fierbinți" genice. Acest tip de mutații reprezintă aproximativ 30%

[74] Vezi capitolul **Gena unitate de structură, funcție şi mutație**

din totalul substituţiilor, iar frecvenţa lor este de circa 25 de ori mai mare decât cea a altor mutaţii genice.

VII.3.4.2.2. Deleţiile şi inserţiile genice

Deleţiile genice se caracterizează prin pierderea unor fragmente genice, în timp ce ***inserţiile genice*** se caracterizează prin introducerea uneia sau mai multor nucleotide noi.

Majoritatea deleţiilor şi inserţiilor genice implică doar câteva perechi de baze azotate, astfel încât pot fi detectate doar prin aplicarea tehnicilor de analiză moleculară, bazate pe secvenţializarea nucleotidelor.

În situaţia în care fragmentul genic modificat este mai mare, conţinând sute sau mii de perechi de baze, rezultă gene mutante care pot fi detectate prin tehnica Southern blott sau prin tehnica PCR[75]. Rareori, deleţia sau inserţia este foarte întinsă, depăşind 3 milioane de perechi de baze azotate, fiind posibilă detecţia prin marcaj cromosomic de înaltă rezoluţie. În acest ultim caz, de cel mai multe ori sunt afectate mai multe gene învecinate, rezultând un sindrom al genelor contigue.

Deleţiile şi ***inserţiile mici*** au efecte grave, în special când se produc la nivelul cadrului de lectură. Efectele lor sunt diferite în funcţie de numărul de nucleotide modificate. Acest tip de mutaţii a fost identificat în aproximativ un sfert din bolile monogenice umane.

În condiţiile în care numărul de nucleotide modificat este multiplu de trei, se produce pierderea sau introducerea unuia sau mai multor codoni, dar restul secvenţei nucleotidice (şi implicit şi a celei de aminoacizi) este normală. În astfel de situaţii, efectele fenotipice ale mutaţiei pot fi minore, în special când este modificat un număr mic de codoni.

În schimb, în condiţiile în care deleţia sau inserţia determină pierderea, respectiv introducerea unui număr de perechi de baze care nu este multiplu de trei, rezultă o genă în care de la nivelul mutaţiei până la sfârşitul cadrului de lectură întreaga secvenţă genică este modificată. Acest tip de mutaţii sunt denumite ***mutaţii frameshift*** (mutaţii cu modificarea prin decalare a cadrului de lectură). Efectul fenotipic este deosebit de grav, deoarece pe baza secvenţei nucleotidice va fi sintetizată o proteină cu structură anormală (figura VII.29.).

Deleţiile şi ***inserţiile genice*** de dimensiuni mari nu sunt foarte frecvente, reprezentând doar circa 6% din totalul mutaţiilor genice, dar ele au fost identificate în majoritatea bolilor monogenice. Frecvenţa acestor mutaţii este diferită în diverse boli.

[75] Vezi capitolul **Tehnologia ADN recombinant**

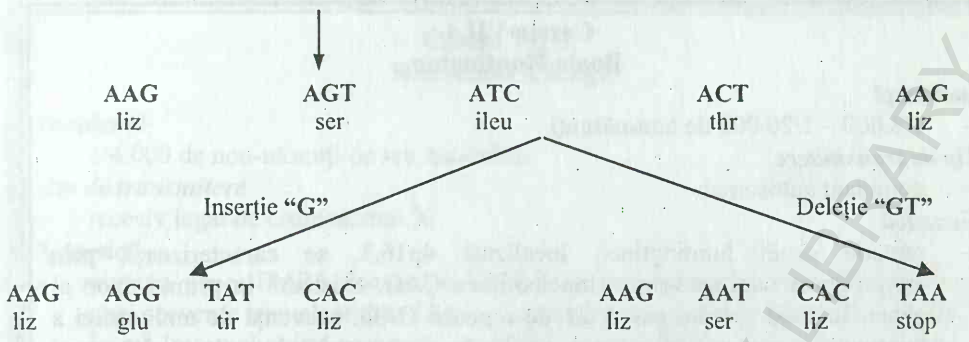


Figura VII.29. Efectul unei deleții sau inserții de tip *frameshift* asupra secvenței genice

săgeata indică nivelul la care s-a produs inserția bazei azotate "G" respectiv deleția dinucleotidului "GT"

Astfel, în distrofia miotonică Duchenne deleţiile genei distrofinei au fost depistate în mai mult de 60% din cazuri, o situație similară fiind întâlnită în cazul mutațiilor genei α globinei. În cazul altor gene, precum gena β-globinei, deleţiile genice mari sunt fenomene rarisime.

Principalul mecanism implicat în apariția deleţiilor şi inserţiilor genice mari este cel de ***crossing-over inegal*** în cursul meiozei I[76] sau al ***schimbului inegal între cromatidele surori***, produs în cursul mitozei. Aceste schimburi inegale sunt relativ frecvent întâlnite în cazul familiilor de gene, fiind favorizate de existența similitudinilor structurale între secvențele nucleotidice ale acestor gene. Acest tip de mecanism a fost identificat în cazul mutațiilor genei α-globinei sau a genelor pigmenților vederii colorate.

VII.3.4.2.3. Mutațiile dinamice

Un tip special de mutații au fost identificate în ultimul deceniu. Aceste mutații se caracterizează prin amplificarea în cursul meiozei (de obicei a ovogenezei) a unor repetiții trinucleotidice, localizate în diverse gene. Aceste secvențe sunt localizate la nivelul cadrului de lectură al genei, în regiuni translate sau netranslate.

Creşterea numărului de repetiții a unei secvențe trinucleotidice, localizată la nivelul unui exon va determina producerea unei proteine cu o secvență de aminoacizi anormală. O astfel de situație este întâlnită în cazul bolii Huntington, în care repetiția trinucleotidică CAG este localizată la nivelul unuia dintre exonii genei ***huntingtinei*** (caseta VII.4.).

[76] Vezi capitolul **Gena unitate de structură, funcție și mutație**

Caseta VII.4.
Boala Huntington

Incidență
- 1/8.000 – 1/20.000 de nou-născuți

Tip de transmitere
- dominant autosomal

Genetică
- mutația genei huntingtinei, localizată 4p16.3, se caracterizează prin amplificarea unei secvențe trinucleotidice CAG, existentă în primul exon al genei. În mod normal există 21 de repetiții CAG, secvența de aminoacizi a huntingtinei prezentând la acest nivel o succesiune poliglutaminică. În cursul spermatogenezei printr-o aliniere eronată a secvențelor CAG se poate produce creşterea numărului de repetiții până la 40-100 de secvențe, ceea ce are ca efect apariția bolii la descendenți.

Patogenie:
- în cazul existenței unei amplificări trinucleotidice mai mari de 40, se formează o moleculă de huntingtină, care conține prea multe repetiții de glutamină, ceea ce afectează funcția proteică;
- în această boală este prezent fenomenul de **anticipație**, caracterizat prin debutul mai precoce şi severitatea mai mare a afecțiunii la descendenții unui individ afectat, fenomen care s-a dovedit a fi corelat cu creşterea numărului de repetiții CAG în cursul spermatogenezei;
- prezența huntingtinei anormale se asociază cu o degenerescență precoce a ganglionilor bazali cerebrali şi a neuronilor din cortex.

Diagnostic clinic
- se bazează pe evidențierea în jurul vârstei de 40 de ani a simptomelor neurologice caracterizate prin: pierderea progresivă a controlului mişcărilor musculare (cu apariția de mişcări coreice – dansante - necontrolate) tulburări ale vorbirii, modificări comportamentale şi în final pierderea funcției cognitive cu instalarea demenței şi exitus

Diagnostic presimptomatic
- evidențierea prin PCR a numărului de repetiții CAG la descendenții unui individ afectat;

Prognostic
- infaust, decesul survenind la 10-20 de ani de la instalarea bolii.

Tratament
- nu există tratament specific.

Când secvența trinucleotidică amplificată este prezentă într-un domeniu transcris, dar netranslat al unei gene, prin creşterea numărului de repetiții se modifică secvența de nucleotide a ARNm precursor, ceea ce are ca efect apariția unei molecule instabile. O astfel de mutație apare în sindromul X fragil, fiind caracterizată prin amplificarea secvenței trinucleotidice CGG, localizată în regiunea netranslată 5' a genei FMR1 (caseta VII.5.).

Caseta VII.5.
Sindromul X fragil

Incidență
– 1/4.000 de nou-născuți de sex masculin.
Tip de transmitere
– recesiv legat de cromosomul X.
Genetică
– mutația genei FMR1, localizată Xq27.3, se caracterizează prin amplificarea unei secvențe trinucleotidice CGG, existentă în regiunea netranslată 5' a genei. În mod normal există mai puțin de 60 de repetiții CGG; în cursul ovogenezei printr-o aliniere eronată a secvențelor CGG se poate produce creşterea numărului de repetiții la mai mult de 200 de secvențe, cu apariția bolii la descendenți.
Patogenie:
– în cazul prezenței unei amplificări trinucleotidice de 60-200, persoana are o premutație, existând un risc crescut de a avea descendenți anormali;
– prezența a mai mult de 200 de repetiții trinucleotidice determină hipermetilarea citozinei la nivelul regiunii promotor a genei, ceea ce duce la pierderea funcției genei;
– hipermetilarea citozinei modifică replicarea regiunii respective şi condensarea cromatinei ceea ce este corelat cu apariția situsului fragil caracteristic (figura), evidențiat prin cultivarea limfocitelor în mediu sărac în acid folic sau prin introducerea în mediu de cultură a metotrexatului
– este prezent fenomenul de ***anticipație***, corelat cu creşterea numărului de repetiții CGG în cursul ovogenezei;
Diagnostic clinic
fenotipul caracteristic sindromului X-fragil apare la bărbații adulți şi constă în dismorfie facială (față alungită, cu prognatism şi urechi mari, proeminete) macroorhidie şi retard mental moderat cu tulburări de comportament. La copil afecțiunea este sugerată de întârzierea apariției limbajului, hiperactivitate cu deficit de atenție sau comportament de tip autist.
Diagnostic paraclinic
– evidențierea prin PCR a numărului de repetiții CAG la descendenții unui individ afectat; evidențierea situsului X fragil prin tehnici citogenetice clasice (figura VII.30).
Prognostic
– retard mental mediu.
Tratament
– nu există tratament specific.

VII.3.4.2.4. Efectele mutațiilor genice nucleare

Efectul mutațiilor genice asupra funcției proteinei codificată de gena afectată este prezentat în tabelul VII.5. şi figura VII.31.

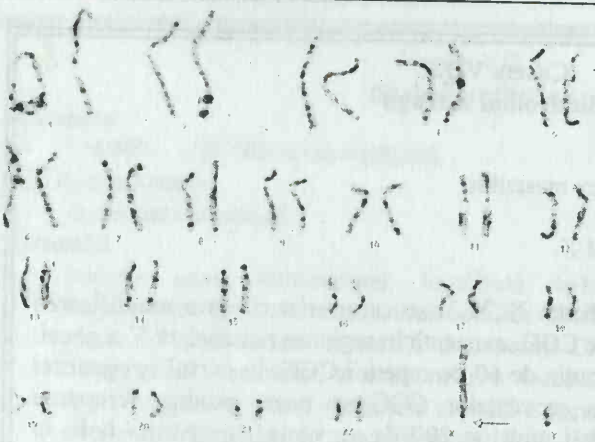


Figura VII.30. Exemplu de situs fragil pe cromosomul X

Tabelul VII.5. Efectul localizării şi al tipului de mutaţie asupra funcţiei genei

Localizarea şi tipul mutaţiei	Efectul asupra funcţiei genei	Comentarii
Mutaţie extragenică	Nici un efect	Rareori pot cauza inactivarea unor elemente de reglare a funcţiei genei
Deleţie multigenică	Dispariţia funcţiei	Asociată cu sindroamele genelor contigui
Deleţia unei gene	Dispariţia funcţiei	
Duplicaţia unei gene	Poate produce efecte prin alterarea dozajului genic	Duplicaţia genei CMT1A cauzează boala Charcot-Marie-Tooth
Deleţia unui exon	Dispariţia sau modificarea funcţiei	Modifică cadrul de lectură cu apariţia unor proteine instabile
Mutaţii în exoni	Dispariţia funcţiei	Pierderea/ modificarea unor aminoacizi cheie, deplasarea cadrului de lectură sau transformarea unui codon sens într-un codon stop; amplificarea unei repetiţii trinucleotidice
	Modificarea funcţiei	Substituţii ce nu se conservă
	Nici un efect	Transformarea unui codon sens (codon stop) într-un codon sinonim
Mutaţia unui codon stop	Modificarea funcţiei	Proteină mai lungă
Deleţia unui intron	Nici un efect	
Mutaţiile secvenţelor dinucleotidice laterale ale intronilor	Pierderea funcţiei sau funcţie anormală	Apar exoni mai lungi sau dispar exoni
Mutaţii intronice	De obicei, nici un efect	
Mutaţii în regiunea promotor	Dispariţia sau modificarea efectului	Alterează expresia genică. Deleţia completă duce la dispariţia funcţiei
Mutaţie la nivelul cozii poliadenilice	Dispariţia sau modificarea efectului	Alterează expresia genică. Deleţia completă duce la dispariţia funcţiei

USMF / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

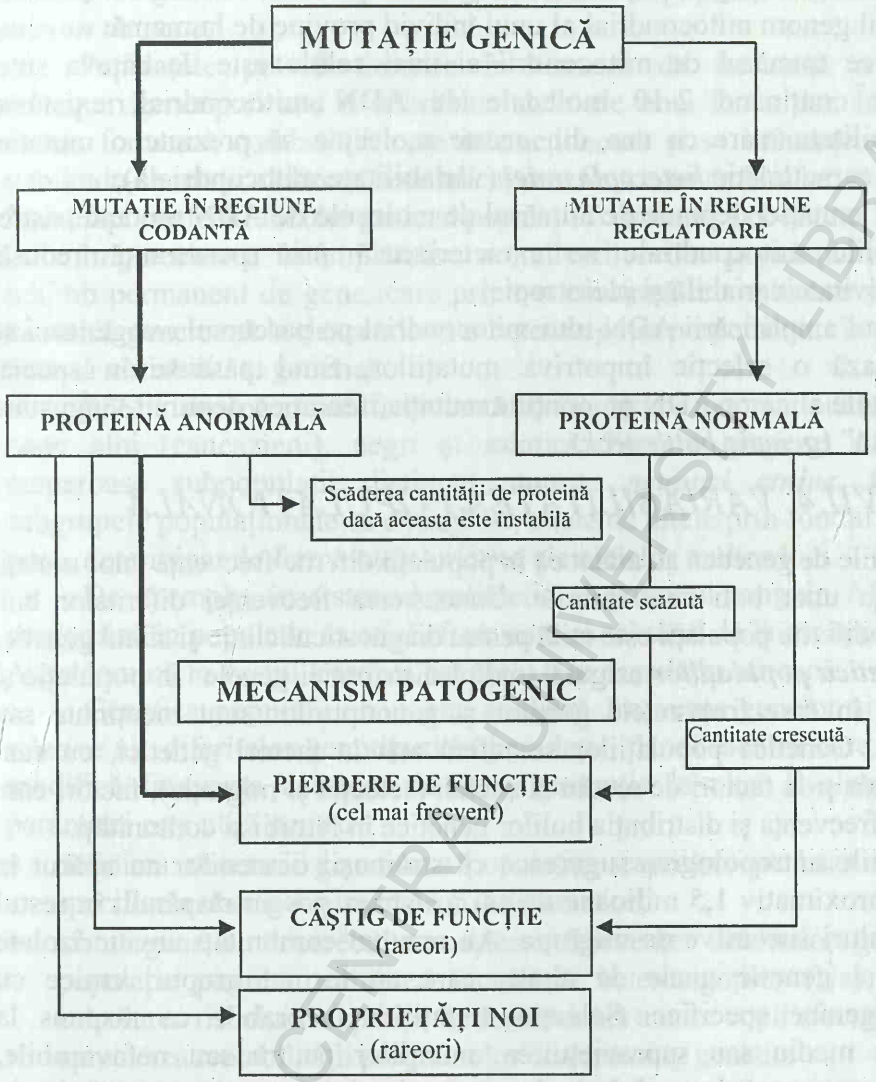


Figura VII.31. Efectul mutațiilor genice asupra funcției proteinei codificată de gena afectată

VII.3.5. MUTAȚIILE GENICE MITOCONDRIALE

Genomul mitocondrial prezintă mutații genice care au o serie de particularități diferite de cele observate în cazul genomului nuclear:

- rata mutațiilor mitocondriale este mai mare de 10 ori decât cea a mutațiilor nucleare (nu există mecanism de autocorecție);
- transmiterea mutațiilor mitocondriale nu respectă legile lui Mendel, existând o ***transmitere matriliniară*** (de la mama afectată la toți copiii ei, indiferent de sexul acestora) care este consecința faptului că în cursul

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

fecundării, întreaga citoplasmă a zigotului provine din ovul[77] şi astfel întregul genom mitocondrial al unui individ provine de la mamă;

- deoarece numărul de mitocondrii ai unei celule este de câteva sute, fiecare conţinând 2-10 molecule de ADN mitocondrial, există o probabilitate mare ca una din aceste molecule să prezinte o mutaţie, aspect caracteristic ***heteroplasmiei*** (variabilitate mitocondrială);
- efectul mutaţiei depinde de numărul de molecule de ADN mutante, astfel că bolile mitocondriale se caracterizează prin penetranţă redusă, expresivitate variabilă şi pleiotropie;
- în cursul amplificării ADN-ului mitocondrial pe parcursul ovogenezei se realizează o selecţie împotriva mutaţiilor, fiind păstrate în special organitele al căror ADN nu conţine mutaţia, fenomen denumit "îngustare genetică" (*genetic bottleneck*).

VII.4. VARIABILITATEA POPULAŢIONALĂ

Studiile de genetică au arătat că în populaţii diferite frecvenţa unor mutaţii şi frecvenţa unor boli sunt diferite. Cunoaşterea frecvenţei diferitelor boli genetice în diferite populaţii este utilă pentru diagnosticul clinic şi sfatul genetic.

Genetica populaţiilor asigură studiul distribuţiei genelor în populaţie şi a modului în care frecvenţele genelor şi genotipurilor sunt menţinute sau modificate. Genetica populaţiilor se referă atât la factori genetici, cu sunt mutaţiile, cât şi la factori de mediu şi sociali (selecţia şi migraţia), factori care determină frecvenţa şi distribuţia bolilor genetice în familii şi comunităţi.

Studiile antropologice sugerează că strămoşii oamenilor au apărut în urmă cu aproximativ 1,5 milioane de ani în Africa şi s-au răspândit în restul lumii în valuri succesive de migraţie. Au rezultat comunităţi umane izolate geografic şi genetic unele de altele, care au format grupuri etnice cu frecvenţe genice specifice. Selecţia mutaţiilor favorabile ca răspuns la factorii de mediu sau supravieţuirea mutaţiilor neutre sau nefavorabile, împreună cu un anumit grad de izolare reproductivă între grupuri, au dus la stabilirea de diferenţe genetice între grupurile populaţionale.

Populaţia reprezintă un grup (comunitate) de indivizi care au un fond comun de gene, trăiesc în acelaşi habitat şi se reproduc la întâmplare (panmictic), fără selecţia partenerilor de sex opus. Populaţia biologică constituie o ***unitate de reproducere panmictică şi o unitate de evoluţie.***

Fiecare organism primeşte de la părinţii săi, prin genele gameţilor, informaţiile necesare pentru formarea şi dezvoltarea sa. În acest mod, membrii unei populaţii umane moştenesc şi transmit gene asemănătoare.

[77] fiecare ovul conţine un număr de aproximativ 100.000 de mitocondrii, număr mult mai mare decât cel din celălalte celule somatice, care conţin doar câteva sute de mitocondrii

Totalitatea genelor existente la un moment dat în populație alcătuiesc ***fondul comun de gene***.

Populațiile pot fi descrise în termeni de frecvență a diferitelor fenotipuri/genotipuri sau a diferitelor alele ale unui locus dat. În populație, genele formează combinații, care interacționează și se influențează reciproc, stabilindu-se relații alelice și nonalelice, care fac ca ansamblul lor să fie integrat. Acest fapt conferă fondului genic al populației o puternică coeziune.

Împerecherea întâmplătoare a indivizilor din populație produce un schimb permanent de gene, care printr-o continuă recombinare și segregare meiotică generează la descendenți o heterozigoție perpetuă, iar în populație o intensă variabilitate genetică.

Specia umană poate fi divizată în trei grupe populaționale, denumite ***rase***: albi (caucazieni), negri și asiatici. Fiecare grup se subdivide în numeroase subpopulații distincte, numite ***grupuri etnice***. Grupele și subgrupele populaționale se deosebesc unele de altele prin fondul specific de gene, determinat de frecvențele diferite ale alelelor multor loci.

De exemplu, în sistemul polialelic al grupului sanguin AB0, alela B predomină în populația asiatică, frecvența ei scăzând de la est spre vest, alela A predomină în vestul Europei, iar alela 0 în populația africană.

Genetica populațiilor umane studiază frecvența genelor și proporțiile relative ale diferitelor genotipuri în populație, dar și factorii care mențin sau modifică frecvența acestora de la o generație la alta. Evaluarea acestor parametri este utilă pentru:

- definirea structurii genetice a populației respective pe baza frecvențelor specifice a unor gene mutante și boli genetice;
- sfatul genetic, deoarece cunoașterea frecvenței diferitelor genotipuri în populație permite stabilirea incidenței heterozigoților (Na) sănătoși și calcularea riscului de apariție în descendență a unor copii afectați (aa);
- aprecierea rentabilității programelor de screening genetic.

Frecvențele genotipice și alelice depind de tipul de căsătorie, mărimea și distribuția populației, mutații, migrații și selecție.

Calcularea frecvențelor genotipice pe baza frecvențelor alelice, într-o populație în echilibru, în care încrucișările sunt întâmplătoare, se face folosind legea Hardy – Weinberg, elaborată în 1908 independent de matematicianul englez Goeffrey Hardy și medicul german Wilhelm Weinberg.

Enunțul ***legii Hardy – Weinberg*** este următorul: ***într-o populație panmictică în echilibru (în care căsătoriile se fac la întâmplare), neinfluențată de migrații, selecție sau mutații, în cazul unui locus ce poate fi ocupat de două alele X și Y, frecvențele alelelor (p și q) și frecvențele***

genotipurilor XX, XY şi YY (p^2, 2pq respectiv q^2) se menţin constante în succesiunea generaţiilor.

Presupunerile pe care se bazează legea Hardy - Weinberg sunt următoarele: *legea se aplică populaţiilor mari, rata mutaţiilor este constantă, nu există selecţie în favoarea sau defavoarea unui genotip, nu există căsătorii preferenţiale sau consangvine, nu există migraţie spre sau dinspre populaţia respectivă, genele alele nu au efecte diferite asupra fertilităţii.*

Echilibrul genic, postulat de legea Hardy – Weinberg, se realizează numai în condiţii speciale: *populaţii panmictice, în care încrucişările sunt aleatorii şi nu există selecţie, mutaţii sau migraţii.* Aceste condiţii sunt rar îndeplinite în populaţiile umane, totuşi evoluţia spre un echilibru genetic stabil este posibilă. Factorii care modifică echilibrul Hardy - Weinberg sunt: căsătoriile neîntâmplătoare (stratificare, căsătorii asortative şi consanguinitate), mutaţiile, selecţia şi migraţiile.

VII.4.1. CĂSĂTORIILE NEÎNTÂMPLĂTOARE

În majoritatea populaţiilor umane, căsătoriile sunt rareori aleatorii. Ele sunt, de obicei, orientate, în sensul că membrii unei subpopulaţii, definită pe criterii rasiale, etnice, religioase, se unesc mai frecvent cu alţi membri ai aceleiaşi populaţii. Acest lucru este firesc deoarece multe populaţii sunt ***stratificate***, fiind alcătuite din mai multe subgrupe cu un "profil genic" caracteristic. Uneori ele formează adevărate "izolate", populaţii mici în care membrii lor nu se vor încrucişa înafara grupului.

Datorită stratificării, în fiecare subgrup unele afecţiuni sunt mai frecvente, iar altele mai rare. Exemple de afecţiuni frecvente în anumite subgrupuri populaţionale sunt: boala Tay- Sachs la evreii Ashkenazi, talasemia în jurul bazinului Mediteraneean, sicklemia la negrii americani, fibroza chistică şi fenilcetonuria la caucazieni.

La acest fenomen de stratificare a populaţiei se adaugă ***încrucişarea asortativă sau preferenţială***, care constă în alegerea partenerului pe baza anumitor criterii (limbaj, inteligenţă, statură, culoarea pielii, talent muzical, abilităţi sportive etc). Ea este, de obicei, *pozitivă*, adică indivizii tind să-şi aleagă un partener care să le semene. O astfel de încrucişare influenţează echilibrul Hardy-Weinberg deoarece creşte frecvenţa homozigoţilor în defavoarea heterozigoţilor. Încrucişarea asortativă *negativă* se referă la alegerea unui partener cu caracteristici opuse, este rar întâlnită şi nu influenţează semnificativ echilibrul Hardy- Weinberg. Un aspect clinic important se referă la tendinţa indivizilor bolnavi de a se căsători cu parteneri cu *probleme medicale similare* (de exemplu surditate, cecitate, nanism).

Atunci când partenerii sunt purtători ai aceleiaşi mutaţii (ceea ce se

întâmplă rar) frecvența genică se modifică prin creşterea frecvenței homozigoților anormali. De obicei, deşi partenerii au aceeaşi problemă medicală, substratul este reprezentat de mutații diferite (heterogenitate genetică) iar riscul unui astfel de cuplu de a avea copii anormali este doar puțin mai mare decât cel din populația generală.

Un aspect particular al uniunilor nonaleatorii îl reprezintă *încrucişările consanguine*. Frecvența lor a scăzut în ultimele decenii, căsătoriile consanguine rămânând frecvente doar în anumite subgrupe populaționale.

O căsătorie este considerată consanguină când cei doi membri au cel puțin un strămoş comun până la a treia generație de ascendenți (străstrăbunic). Ei vor avea mai multe gene în comun decât indivizii neînrudiți, ceea ce duce la o creştere a posibilităților de întâlnire a doi heterozigoți pentru aceiaşi genă şi la o amplificare la descendenți a proporției homozigoților bolnavi cu afecțiuni recesive severe, a bolilor poligenice/multifactoriale sau a malformațiilor congenitale.

Riscul naşterii unui copil homozigot pentru o alelă recesivă rară este proporțional cu gradul de înrudire. În cazul căsătoriilor consanguine este importantă stabilirea *coeficientului de înrudire* (R) şi a *coeficientului de consanguinitate* (F).

Coeficientul de înrudire se calculează folosind formula:

$$R = \left(\frac{1}{2}\right)^{(n_1+n_2+1)}$$

unde:

- R – coeficient de înrudire;
- n_1 – numărul de generații existente între unul din membrii cuplului consanguin şi strămoşul comun;
- n_2 – numărul de generații existente între celălalt membru al cuplului consanguin şi strămoşul comun.

Coeficientul de consanguinitate se calculează cu formula:

$$F = 2 \times R \times \frac{1}{4}$$

unde:

- F – coeficient de consanguinitate;
- R – coeficient de înrudire.

Coeficientul de consanguinitate al unui copil rezultat dintr-o căsătorie consanguină reprezintă probabilitatea acestuia de a moşteni aceeaşi alelă de la ambii genitori, genă pe care aceştia au moştenit-o de la un strămoş comun. În tabelul VII.6. sunt prezentați coeficienții de consanguinitate pentru diferite tipuri de căsătorii consanguine.

Tabelul VII.6. Coeficienţii de înrudire şi de consanguinitate în diferite tipuri de căsătorii

Tip de căsătorie	Proporţia de alele în comun (coeficient de înrudire)	F (coeficient de consanguinitate)
Părinte - copil	1/2	1/4
Frate - soră	1/2	1/4
Fraţi vitregi	1/4	1/8
Unchi – nepoată Mătuşă - nepot	1/4	1/8
Veri gradul I	1/8	1/16
Veri gradul II	1/32	1/64
Veri gradul III	1/128	1/256

Spre deosebire de afecţiunile din populaţiile stratificate, în care fiecare subgrup are o frecvenţă crescută a câtorva alele, tipurile de boli recesive, care apar la descendenţii căsătoriilor consanguine sunt reprezentate de boli foarte rare, care, de obicei, sunt prezente numai în acea familie, nu şi la alţi membri ai comunităţii.

VII.4.2. POPULAŢIILE REDUSE

Pentru motive diferite (geografice, religioase, politice) un subgrup restrâns dintr-o populaţie se poate izola fizic şi/sau social de restul populaţiei formând un ***izolat genetic***.

În populaţiile mici se poate produce un fenomen care modifică echilibrul Hardy - Weinberg, numit ***derivă genetică întâmplătoare*** (creşterea frecvenţei sau excluderea unei mutaţii în raport cu numărul de copii mai mare sau mai mic al purtătorilor de mutaţie în raport cu indivizii indemni).

O altă explicaţie a incidenţei mari a unor afecţiuni genetice în anumite populaţii este ***efectul de fondator***. Dacă membrii fondatori ai unui subgrup au o genă mutantă recesivă rară, prin încrucişările ulterioare în cadrul subgrupei populaţionale respective se produce o homozigotare frecventă şi o creştere a incidenţei bolii, produsă de gena mutantă.

Se cunosc mai multe exemple: frecvenţa crescută a bolii Huntington în regiunea lacului Maracaibo din Venezuela, a tirozinemiei în regiunea franceză a Canadei sau a porfiriei variegata în Africa de Sud.

O acţiune combinată a derivei genetice şi efectului de fondator s-a înregistrat în Finlanda, unde populaţia a fost mult timp izolată genetic, geografic, lingvistic şi cultural. La acest fenomen s-a adăugat explozia demografică din ultimele secole. Aceşti factori au determinat o frecvenţă crescută în Finlanda a circa 20 de boli genetice, rare în alte zone ale lumii (sindromul nefrotic congenital, aspartilglicosaminuria, coroideremia etc.).

VII.4.3. MUTAȚIILE ȘI VARIABILITATEA POPULAȚIONALĂ

Mutațiile favorabile au jucat un rol important în evoluția biologică, culminând cu apariția omului și evoluția acestuia. Majoritatea mutațiilor noi sunt, însă, defavorabile și tind să rupă echilibrul genic din populație.

Amploarea efectului defavorabil al unei mutații poate fi apreciat prin consecințele acesteia asupra capacității biologice de supraviețuire și reproducere a individului (*fitness*). Ea reprezintă principalul factor care determină dacă o genă mutantă dispare imediat, supraviețuieste câteva generații sau devine o alelă predominantă.

O mutație poate fi letală atunci când nu se transmite la generația următoare, deoarece afectează supraviețuirea sau reproducerea (produce moarte sau sterilitate). De exemplu, *osteogenesis imperfecta* tip 2, este determinată de mutații care nu se pot transmite la descendenți, astfel că această boală are caracter sporadic.

Mutațiile pot fi subletale, când reduc rata de reproducere, cum este cazul în acondroplazie, unde indicele de fertilitate al bolnavilor este 0,20.

Mutațiile se produc continuu, iar efectele lor defavorabile realizează *povara genetică* a populației, reprezentată de reducerea capacității reproductive indusă de toate mutațiile existente la indivizii unei populații.

Efectul negativ al unor mutații este influențat și contrabalansat de selecție, păstrându-se astfel un echilibru genic. Menținerea constantă a unei frecvențe genice se realizează prin înlocuirea genelor anormale pierdute prin deces sau sterilitate prin mutații noi în generația următoare.

Pentru majoritatea genelor umane rata de mutație este relativ mică, de ordinul a 10^{-6} per locus/gamet/generație. Dintre excepțiile de la această regulă poate fi citată distrofia musculară Duchenne în care rata mutațiilor este de ordinul 10^{-4}. Fenomenul poate fi explicat de dimensiunea foarte mare a genei (>2.000Kb) care o face mai vulnerabilă la acțiunea agenților mutageni.

VII.4.4. SELECȚIA

Selecția reprezintă acțiunea factorilor de mediu asupra unui anumit genotip. Genotipurile dezavantajoase sunt selectate negativ (eliminate) și contribuie cu puține gene la fondul generației următoare. În schimb, genotipurile avantajoase sunt selectate pozitiv (menținute) și contribuie cu un număr mare de gene la generația următoare. Selecția acționează prin diminuarea sau creșterea aptitudinii biologice de supraviețuire și reproducere a indivizilor.

Selecția favorizează indivizii cu cea mai ridicată capacitate de reproducere și elimină variațiile care slăbesc potențialul reproductiv.

Mutațiile produse în regiunile necodante ale genelor sau în segmentele intergenice sunt neutre din punct de vedere al efectului lor fenotipic și nu

sunt supuse selecției. În schimb, mutațiile cu efecte negative, defavorabile, sunt cu certitudine supuse selecției, care uneori este foarte eficientă.

Teoretic există patru moduri de acțiune a selecției naturale.

Selecția contra mutațiilor dominante autosomale acționează astfel încât gena defavorabilă este supusă direct selecției, deoarece ea se manifestă fenotipic atât la heterozigoți, cât şi la homozigoți. Selecția acționează rapid, iar transmiterea mutației la generațiile următoare depinde de aptitudinile de supraviețuire şi reproducere ale indivizilor ce au mutația.

Selecția contra mutațiilor recesive defavorabile este mai puțin eficientă şi foarte lentă, deoarece numai o mică proporție a acestor gene sunt manifeste (la homozigoți). În majoritatea cazurilor, gena este nemanifestă, fiind prezentă la heterozigoți, care au un indice de fertilitate normal. În mutațiile recesive ale genelor situate pe cromosomul X selecția se face contra bărbaților hemizigoți.

Selecția contra heterozigoților este rareori prezentă. De exemplu, în cazul sistemului de grup sanguin Rh a existat o astfel de selecție la femeile Rh negative (dd) o selecție contra fetilor Rh pozitivi, heterozigoți (Dd) care dezvoltă boala hemolitică a nou-născutului.

Selecția în favoarea heterozigoților apare în boli în care aceste persoane au avantaj selectiv față de ambele tipuri de homozigoți. În aceste condiții apare o creştere a frecvenței genei anormale, chiar dacă mutația reduce sever supraviețuirea şi reproducerea la homozigoții recesivi (aa).

Exemplul clasic de astfel de avantaj este cel al heterozigoților pentru sicklemie (dreponocitoză) care sunt rezistenți la malarie. În regiunile în care malaria este endemică (bazinul Mediteranean, Asia de Sud-Est) homozigoții normali (NN) sunt vulnerabili la parazitoză şi vor avea o fertilitate mai redusă comparativ cu heterozigoții, în eritrocitele cărora nu se pot dezvolta paraziții din specia Plasmodium.

În consecință, în aceste regiuni, frecvența genei mutante pentru HbS a crescut în timp. Protecția heterozigoților contra malariei reprezintă o explicație plauzibilă şi pentru frecvențele crescute ale altor gene mutante ale căror produşi funcționali afectează funcția hematiilor: hemoblobinopatia C, talasemia, deficiența în glucozo-6-fosfat dehidrogenază.

VII.4.5. MIGRAȚIILE ŞI FLUXUL GENIC

Migrațiile unui grup etnic dintr-o zonă geografică în alta şi căsătoriile mixte cu populația indigenă (cu o structură genetică diferită) pot modifica frecvențele alelice în cele două populații. Se produce fenomenul de flux genic, definit ca o difuziune lentă a genelor dincolo de barierele rasiale. Procesul implică populații mari şi o modificare gradată a frecvențelor genice. În urma imigrării, fondul genic al populației gazdă se îmbogățeşte.

VIII. TEHNOLOGIA ADN RECOMBINANT

Ingineria genetică vizează separarea şi modificarea unor gene normale sau mutante, sinteza *in vitro* a unor molecule de ADN, reinserţia genelor în organisme vii, care le vor transmite descendenţilor. Etapele sintezei ADN recombinant sunt: secţionarea ADN-ului, transportul, multiplicarea şi legarea fragmentelor obţinute .

Izolarea unei gene care codifică o proteină, prin clonare, este o premisă pentru ingineria proteinelor. Izolarea genei poate fi efectuată pe baza fixării complementare la o sondă de ADN sau prin detecţia proteinei sintetizate de aceasta, folosind anticorpi.

Descoperirea *enzimelor de restricţie,* în 1965, a permis izolarea genelor din genomul diferitelor specii şi înglobarea lor într-un organism gazdă, unde sunt amplificate. Procedurile pentru acest tip de manipulare definesc tehnologia ADN recombinant.

Concomitent cu izolarea şi clonarea genelor au fost perfectate metodologii de obţinere şi combinare a moleculelor de ADN de la diferite specii (ADN recombinant), soldate cu descifrarea structurii şi funcţiei genelor şi aplicarea rezultatelor în: medicină, biotehnologii, industria farmaceutică, zootehnie, agricultură etc.

Identificarea genelor de structură în genomul uman este dificilă, în condiţiile în care cea mai mare genă umană, gena distrofinei are 2,5 Mb, ceea ce reprezintă doar 0,08% din întreg genomul.

Analiza unei secvenţe specifice de ADN este realizabilă aplicând două categorii de metode (figura VIII.1.):

- **clonarea ADN-ului** – fragmentul de ADN, iniţial izolat, este amplificat selectiv (*in vitro* sau *in vivo*) astfel încât să se obţină o cantitate suficientă de produs, care permite analiza structurii şi funcţiei genei respective;
- **hibridarea moleculară** – asigură identificarea poziţiei specifice a fragmentului de ADN, pe baza complementarităţii cu secvenţa nucleotidică a sondei utilizate.

VIII.1. PRINCIPIILE TEHNOLOGIEI ADN – RECOMBINANT

Clonarea moleculară, bazată pe capacitatea de replicare şi diviziune a celulelor, permite amplificarea unei gene izolate în prealabil, reprezentând principiul tehnologiei ADN recombinant. Astfel pot fi obţinute cantităţi mari de ADN, corespunzător unei anumite gene sau secvenţe nucleotidice.

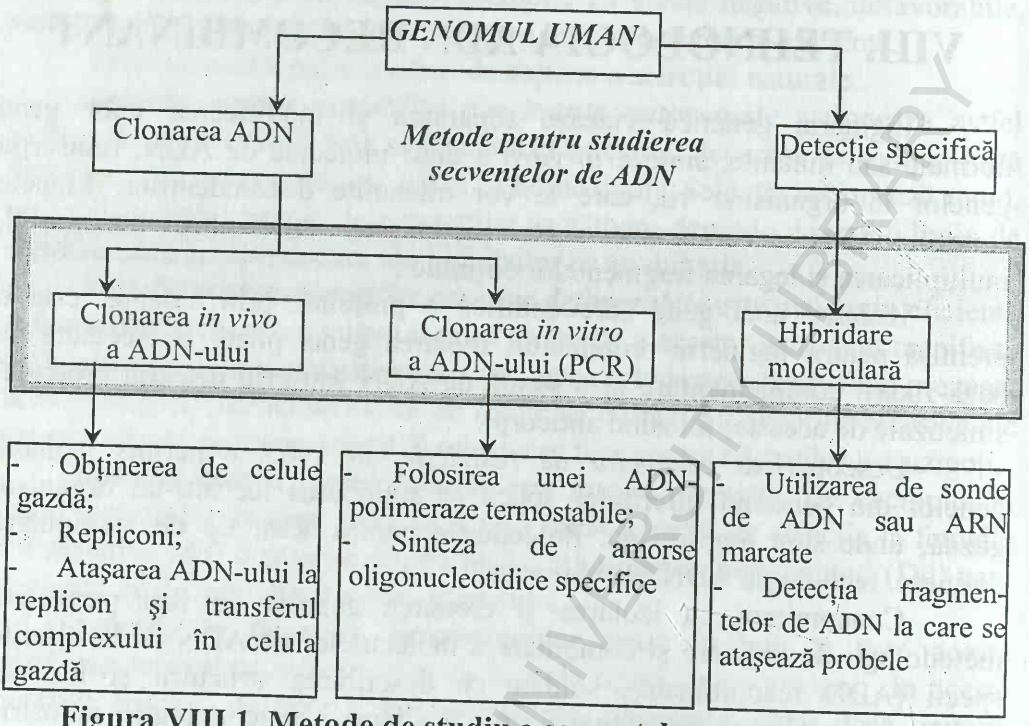


Figura VIII.1. Metode de studiu a secvenţelor complexe de AND

Termenul de ADN recombinant se referă la combinaţiile noi de ADN, obţinute între o anumită secvenţă de ADN uman (sau de la alte organisme superioare) şi molecule de ADN bacterian (sau de la alte specii) capabile să se replice indefinit într-o celulă gazdă şi să exprime informaţia genetică pe care o conţin.

Pentru realizarea moleculelor de ADN-ul recombinant este necesară parcurgerea următoarelor etape:

- construirea unei molecule de ADN recombinant prin ataşarea *in vitro* a fragmentului de ADN uman (***ADN ţintă***) la o secvenţă de ADN capabilă de replicare autonomă (***replicon***) în prezenţa unei ***enzime de restricţie*** care scindează specific cele două secvenţe de ADN;
- integrarea acestor gene în ADN-ul unor vectori capabili să le introducă în celule "gazdă", unde molecula de ADN recombinant se multiplică independent de ADN-ul celulei gazdă în procesul de ***transformare***;
- propagarea selectivă a clonelor celulare, care conţin ADN-ul recombinant;
- izolarea selectivă a ADN-ului recombinant sau a proteinei sintetizate, pe baza informaţiei genetice a acestuia.

VIII.2. OBȚINEREA UNOR GENE SAU FRAGMENTE GENICE

Pentru obținerea unei secvențe de ADN, care ulterior sunt amplificate într-o celulă gazdă pot fi folosite trei modalități:

- izolarea secvenței de ADN din genom, utilizând enzime de restricție;
- formarea unor copii complementare (***ADN complementar*** sau ***ADNc***) pe baza ARNm corespunzător genei, folosind o transcriptază inversă;
- sinteza artificială prin policondensarea nucleotidelor, fie după descifrarea secvenței de nucleotide din genă, fie prin identificarea secvenței de aminoacizi din proteina sintetizată pe baza informației genei.

VIII.2.1. ENZIME DE RESTRICȚIE

Enzimele de restricție sunt endonucleaze, care au capacitatea de a recunoaşte specific o secvență de ADN (bacterian, de levură, de mamifer) şi de a secționa acest ADN, la nivelul sau în apropierea situsului de recunoaştere.

Enzimele de restricție sunt prezente la numeroase specii de bacterii, având rol în apărarea bacteriei împotriva infecției cu diverse virusuri. Genomul bacterian este protejat de acțiunea propriei enzime de restricție prin metilarea situsurilor de clivaj, astfel încât aceste enzime acționează numai asupra secvențelor de ADN exogen.

Au fost identificate mai mult de 300 de enzime de restricție diferite, denumirea lor fiind derivată din denumirea bacteriei, din care a fost izolată (tabelul VIII.1., figura VIII.2.).

Tabelul VIII.1. Enzime de restricție

Enzima[1]	Bacteria	Secvența specifică[2]
Alu I	*Artrobacter lutesu*	AGCT
Hae III	*Haemophilus aegyptus*	GGCC
Taq I	*Thermus aquaticus*	TCGA
Mn/I	*Moraxella nonliquefaciens*	CCTC/GAGG
Hind III	*Hemophilus influenzae Rd*	AAGCTT
EcoRI	*Escherichia coli R factor*	GAATTC
BamHI	*Bacillus amyloliquefaciens H*	GGATCC
PstI	*Providencia stuartii*	CTGCAG
MstI	*Microcoleus species*	CCTNAGG

1. Denumirea indică: specia şi ordinea descoperirii enzimei de restricție. (De exemplu, EcoR I:*Esherichia coli*, prima restrictază descoperită; Hind III: *Haemophilus influenzae*
2. A – adenină, G – guanină, C – citozină; T – timină; N – oricare nucleotidă

Enzima de restricţie	Situs de restricţie	Fragmente rezultate
HaeIII[1]	5′---GG ≈ CC---3′ 3′---CC ≈ GG---5′	5′ GG—CC 3′ 3′ CC—GG 5′
MboI[2]	5′---GA ≈ TC---3′ 3′---CT ≈ AG---5′	5′ GATC---3′ 3′---CTAG 5′
BamHI[3]	5′---GGA ≈ TCC---3′ 3′---CCT ≈ AGG---5′	5′GATCC—G 3′ 3′G—CCTAG 5′
PstI[4]	5′---CTG ≈ CAG---3′ 3′---GAC ≈ GTC---5′	5′ G—CTGCA 3′ 3′ACGTC—G 5′

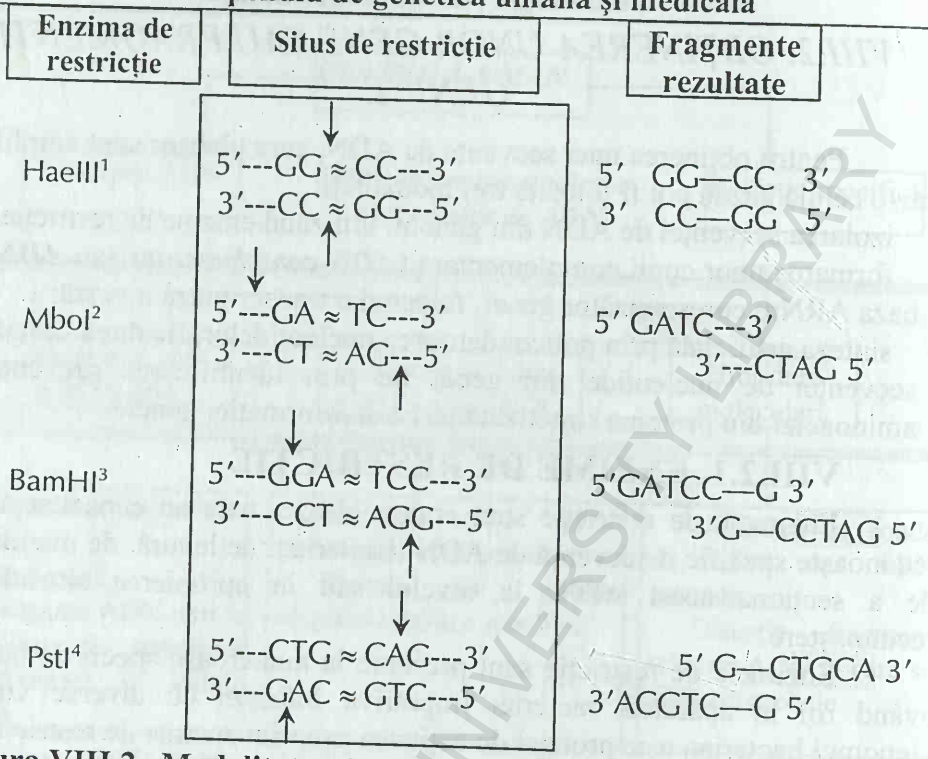


Figura VIII.2. Modalitatea de acţiune a diferitelor tipuri de enzime de restricţie - [1] capete drepte; [2] capăt proeminent 5' GATC; [3] capăt proeminent 5' GATC; [4] capăt proeminent 3' TGCA

Enzimele de restricţie au capacitatea de a recunoaşte specific secvenţe oligonucleotidice de 4-8 pb, de regulă palindromice. Secvenţele *palindromice* sunt caracterizate prin faptul că secvenţele de pe ambele catene de ADN sunt identice, dacă sunt citite în sensul 5'→3'

În urma acţiunii enzimei de restricţie asupra situsului specific de pe molecula de ADN pot rezulta fragmente cu *capete drepte* sau cu *capete proeminente* (engl. – *overhang*). Sunt preferate enzimele care asigură obţinerea de fragmente de ADN cu capete proeminente, deoarece secvenţa monocatenară terminală este "*adezivă*", având tendinţa de a se fixa complementar la secvenţe similare.

În condiţiile în care molecule de ADN de la specii diferite sunt supuse acţiunii aceleiaşi enzime de restricţie vor rezulta fragmente de ADN cu capete similare. În prezenţa unei ADN-ligaze se produce hibridarea fragmentelor de ADN de la specii diferite, rezultând molecule de ADN recombinant.

Sub acţiunea unei anumite enzime de restricţie, molecula de ADN este clivată într-un număr definit, caracteristic şi reproductibil de fragmente, care reflectă localizarea şi frecvenţa situsurilor specifice de clivare.

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Situsurile de restricție nu sunt dispuse la distanțe egale, localizarea lor depinzând de compoziția în baze azotate ale regiunilor genomice, iar fragmentele rezultate sunt inegale. Datorită inegalității dimensiunilor, fragmentele pot fi separate prin electroforeză.

Mutațiile pot modifica un situs de restricție, care nu va mai fi recunoscut de enzimă sau pot crea situsuri noi. Aceste mutatii se acumulează în timp, astfel încât clivarea moleculei de ADN cu aceeaşi enzimă produce la persoane diferite fragmente de ADN cu lungimi diferite, rezultând un polimorfism al lungimii fragmentelor de restricție (RFLP Restriction Fragment Length Polymorphism (engl.) care poate fi folosit ca marker în diagnosticul unor afecțiuni genetice.

VIII.2.2. ADN COMPLEMENTAR (ADN-c)

Moleculele de ADN complementar (ADNc) sunt sintetizate pe baza moleculelor de ARNm, produse de o anumită genă. Sinteza ADNc implică următoarele etape:

- izolarea ARNm specific din celule în care acesta se găseşte din abundență;
- sinteza unui hibrid, prin ataşarea la capătul poliadenilic al ARNm a unei secvențe complementare politimidinice, care constituie amorsa pentru sinteza catenei de ADNc;
- în prezența unei reverstranscriptaze, pe baza secvenței de ARNm este sintetizată catena de ADNc, rezultând un hibrid ARNm - ADNc;
- distrucția catenei de ARNm, în prezența unei ARN-aze sau prin tratamente chimice, rezultând o moleculă de ADN monocatenar;
- sinteza unei molecule de ADNc, cu secvență identică celei a moleculei de ARNm, utilizată ca matriță, în prezența unei ADN-polimeraze (figura.VIII.3.).

O particularitate a moleculelor de ADNc este că secvența acestora corespunde doar exonilor din gena care a produs ARNm folosit ca matriță.

VIII.2.3. SINTEZA UNEI MOLECULE DE ADN FOLOSIND NUCLEOTIDE ACTIVATE

Obținerea moleculelor de ADN, pe bază de nucleotide activate, este o metodă laborioasă, care necesită o dotare tehnică specială, fiind aplicabilă doar pentru secvențe genice cunoscute. Metoda este adecvată pentru sinteza amorselor nucleotidice.

VIII.3. CLONAREA MOLECULARĂ

Pentru analiza fragmentului de ADN obținut, fie prin utilizarea unei enzime de restricție, fie prin metoda ADNc, este necesară multiplicarea fragmentului în cantități suficiente.

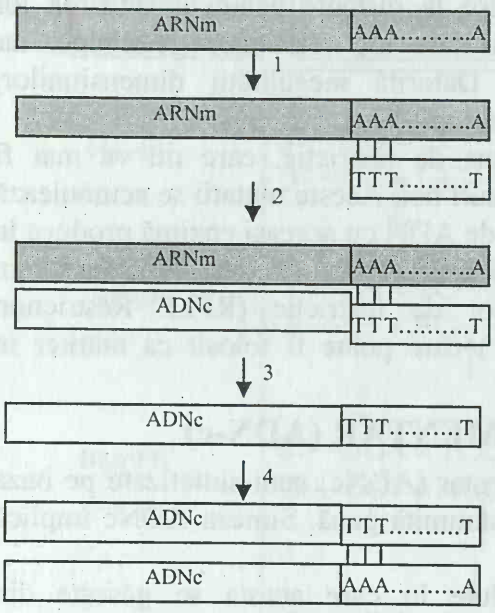


Figura VIII.3. Etapele sintezei ADNc

1 Ataşarea unei amorse politimidinice, complemntară cozii poliadenilice a moleculei de ARNm;
2 Sinteza unei catene de ADNc, în prezenţa reverstranscriptazei, cu formarea unui hibrid ARNm-ADNc;
3 Distrugerea catenei de ARNm;
4 Sinteza ADNc bicatenar, în prezenţa unei ADN-polimeraze

Această amplificare implică două etape: introducerea fragmentului de ADN într-un vector şi inserţia vectorului într-un organism gazdă, în care vectorul are replicare independentă. În final, celulele gazdă, purtătoare ale vectorului, sunt recunoscute specific, iar fragmentul de ADN analizat este extras din celulele respective.

VIII.3.1. VECTORI

Vectorii sunt molecule de ADN, utilizate pentru încorporarea unor secvenţe de ADN străin într-o celulă gazdă. Vectorii trebuie să prezinte următoarele particularităţi:

- să aibă replicare activă şi independentă de genomul celulei gazdă;
- să poată fi obţinuţi uşor;
- să prezinte situsuri de clivare enzimatică unice, pentru a facilita recombinările;
- să aibă talie mică, pentru a fi posibilă inserţia unor fragmente de ADN mari;
- să perturbe minimal activitatea celulei gazdă;
- să nu prezinte mutaţii în timpul amplificării;
- să posede calităţi care să permită selecţia celulelor în care a fost încorporat.

Principalele utilizări ale vectorilor sunt:

- clonarea si amplificarea unei secvenţe de ADN;
- introducerea unei gene în celule (transfecţie);
- introducerea unei gene în organisme superioare (animale transgenice);
- studiul mecanismelor de expresie a unei gene;
- sinteza industrială de proteine codificate de gene.

În tehnicile de clonare pot fi utilizate patru tipuri de vectori, alegerea acestora depinzând de lungimea ADN-ului exogen, pe care-l fixează şi de tipul de ADN clonat (genomic sau complementar) (tabelul VIII.2.)

Tabel VIII.2. Tipuri de vectori

Vector	Gazdă	Tip ADN clonat	Mărimea fragmentului inserat
Plasmide	Bacterii, levuri	Genomic, ADNc	5-6 kb
Bacteriofagi λ	Bacterii	Genomic, ADNc	10-23 kb
Cosmide	Bacterii	Genomic	50 kb
Cromosomi artificiali	Bacterii (BAC) Bacteriofagi P (PAC) Levuri (YAC)	Genomic	100-300 kb 100-120 kb 100-1000 kb

Plasmidele sunt vectorii cei mai simpli, fiind alcătuiți din mici molecule circulare, dublu catenare de ADN, de circa 2-5 Kb, prezente în bacterii şi care au replicare independentă de cea a cromosomului bacterian. Fiecare celulă bacteriană conține 50 - 100 plasmide. Ele prezintă un situs de inițiere/origine a replicării (**ori**) una sau mai multe gene care conferă rezistență la antibiotice şi un situs unic de restricție, situat într-o genă de selecție (figura VIII.4.a).

La nivelul situsului de restricție pot fi inserate molecule exogene de ADN, cu dimensiuni de 5-10 Kb. După introducerea secvenței de ADN, plasmidul este încorporat într-o bacterie, proces numit ***transformare***.

Bacteriofagii sunt virusuri care infectează anumite bacterii. De obicei, în tehnicile de ADN recombinant sunt folosiți fagii λ, care infectează *Escherichia coli*, deoarece ei au un sistem de penetrare a bacteriei şi se replică rapid şi intens. Proliferarea lor în bacterii este certificată de apariția unor regiuni de liză a culturii bacteriene. Bacteriofagii conțin o moleculă bicatenară, liniară de ADN, de aproximativ 45 Kb, localizată în capsula virusului (figura VIII.4.b). Această moleculă de ADN prezintă la ambele extremități segmente monocatenare, adezive, numite *cos,* care permit inserția ADN-ului fagic în cromosomul bacterian. La nivelul regiunii centrale a moleculei de ADN fagic există un segment (10-20 kb) neesențial pentru replicare, care poate fi decupat şi înlocuit cu ADN exogen, rezultând fagi recombinanți, care pot fi introduşi în bacterii, cu scopul amplificării fragmentului de ADN exogen.

Cosmidele sunt vectori artificiali, sintetizați prin adăugarea la o moleculă de plasmid a secvențelor *cos* ale fagului λ, secvențe care permit încorporarea unui fragment de ADN de circa 50 Kb. Cosmidele acționează ca bacteriofagii naturali, astfel încât după introducerea lor în bacterie,

molecula de ADN a cosmidului se circularizează, replicându-se similar unui plasmid. Avantajul cosmidelor este determinat de posibilitatea clonării unor fragmente lungi de ADN.

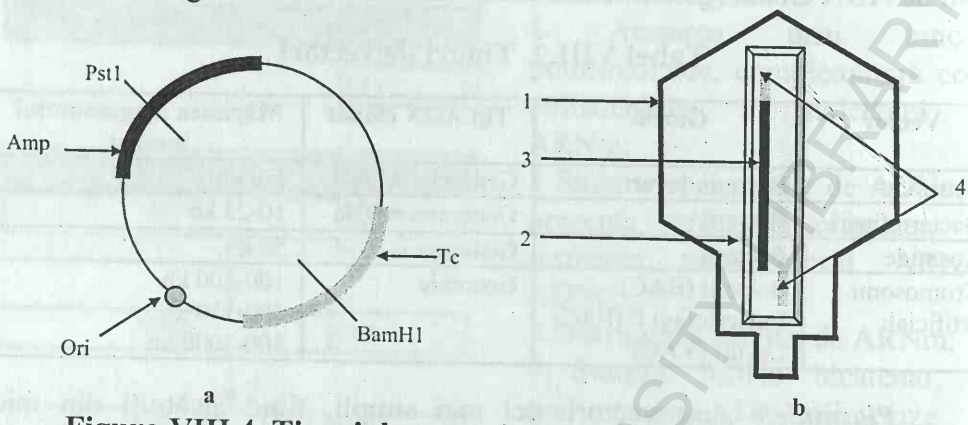


Figura VIII.4. Tipuri de vectori: a – plasmid; b – bacteriofag λ

a - amp (gena de rezistenţă la ampicilină) tc (gena de rezistenţă la tetraciclină) ori (originea replicării) BamH1, PstI (situsuri de restricţie)

b- 1 – capsula fagului; 2 – învelişul proteic al genomului; 3 – moleculă bicatenară de ADN; 4 – secvenţele cos

Cromosomii artificiali pot fi obţinuţi pe bază de componente bacteriene (BAC – *Bacterial Artificial Chromosome*) bacteriofagice (PAC – *P1 bacteriophage Artificial Chromosome)* sau de levuri (YAC – *Yeast Artificial Chromosome*).

În cazul cromosomilor artificiali bacterieni pot fi încorporate fragmente de ADN de până la 300 kb. Dezavantajul folosirii cromosomilor artificiali bacterieni este legat de numărul redus de copii obţinute.

PAC-urile sunt hibrizi între un plasmid şi bacteriofagul P1. Repliconul fagului este iniţial introdus în genomul plasmidului, după care plasmidul este clivat cu două enzime de restricţie. În continuare, este inserat fragmentul de ADN exogen. În final, complexul de ADN este intodus în capsula fagului P, care infectează o bacterie, fiind amplificată secvenţa de ADN exogen.

În cazul sintezei unor cromosomi artificiali de levuri, din cromosomii naturali este obligatorie păstrarea centromerului, a telomerelor şi a secvenţelor de replicare autonomă, elemente esenţiale pentru replicarea cromosomului. Restul secvenţelor cromosomice pot fi înlocuite cu secvenţa de ADN, care trebuie clonată.

Utilizarea acestui tip de vector permite izolarea şi clonarea unor fragmente mari de ADN, de până la 1000 Kb, iar replicarea fragmentelor de ADN repetitiv nu este afectată.

După sinteză, cromosomii artificiali sunt reintroduşi în celulele de levură, de regulă *Saccharomyces cereviseae*, care se multiplică, permiţând clonarea ADN-ului exogen.

După obţinerea unui fragment de ADN , prin intemediul enzimelor de restricţie sau prin metoda ADN-c, se impune multiplicarea fragmentului în cantităţi suficiente pentru analize şi utilizări. În acest scop, genele se inserează într-un vector şi cu ajutorul lui sunt introduse într-o celulă gazdă.

VIII.3.2. CELULE GAZDĂ

Pentru multiplicarea unui vector recombinant se utilizează două categorii de gazde: factori nepatogenici şi celule eucariote.

Bacteriile sunt frecvent folosite datorită multiplicării rapide, facilităţilor de manevrare şi costului redus. Bacteriile sunt modificate pentru a diminua riscurile diseminării artificiale. Cel mai frecvent se utilizează *E.Coli*. Introducerea unui vector într-o celulă bacteriană se numeşte ***transformare***.

Celulele eucariote utilizate sunt de levuri sau plante. Ele se folosesc pentru studiul expresiei genelor eucariote, al modului de reglare sau al efectului mutaţiilor *in vitro*.

Celulele pentru integrarea ADN străin trebuie să se multiplice rapid şi continuu şi să poată fi selecţionate dintre celulele, care nu integrează ADN datorită unei caracteristici fenotipice particulare. Încorporarea ADN-ului într-o celulă eucariotă se numeşte ***transfecţie***.

VIII.3.3. ETAPELE CLONĂRII MOLECULARE

Pregătirea vectorului. Inaintea folosirii sale, vectorul trebuie secţionat, cu o enzimă de restricţie, la locul unde va fi introdusă secvenţa de ADN exogen. Capetele eliberate vor fi tratate cu fosfatază alcalină pentru a fi împiedicată refacerea moleculei de ADN (figura VIII.5.).

Alegerea gazdei depinde de vectorul utilizat. Astfel, celulele bacteriene sunt folosite pentru purificarea, amplificarea sau analiza structurii genelor, iar celulele eucariote pentru studiul funcţiei unei gene umane sau animale.

Realizarea recombinantului şi încorporarea în celulele gazdă. Vectorul şi ADN sunt amestecaţi, în anumite proporţii, în prezenţa unei *ligaze,* care realizează legături solide între moleculele de ADN. Recombinantul obţinut va fi purificat şi apoi încorporat într-o celulă gazdă unde, prin replicare autonomă, va fi multiplicat. Procedura de inserţie este specifică fiecărui tip de vector.

Selecţia celulelor recombinate se bazează pe caractere fenotipice particulare, precum rezistenţa la antibiotice.

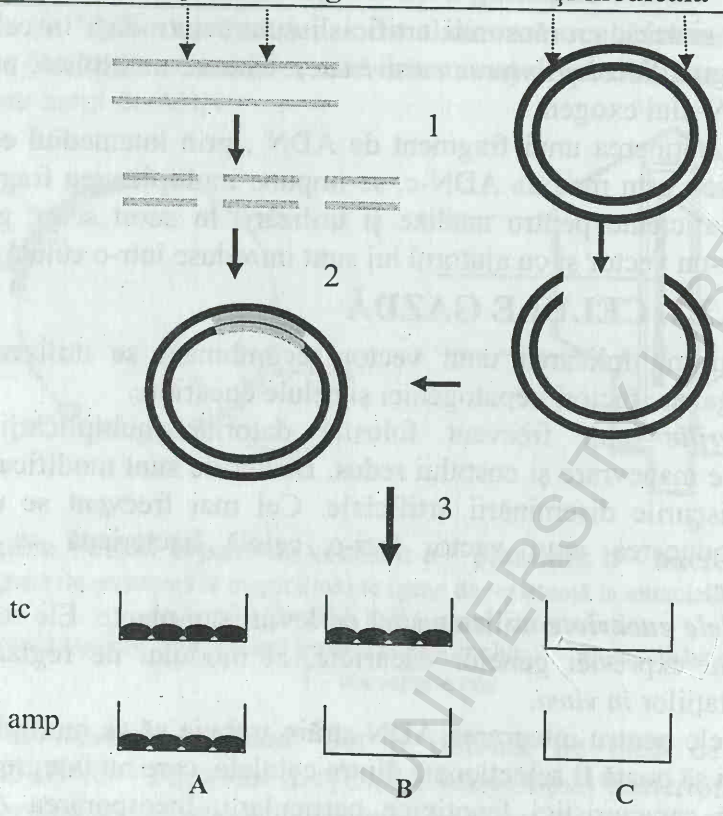


Figura VIII.5. Etapele clonării fragmentelor de ADN uman, folosind plasmidul pBR322

1 – secţionarea plasmidului şi a ADN-ului uman cu enzima de restricţie Pst I, săgeţile punctate indică situsurile de restricţie ale enzimei; 2 – formarea ADN-ului recombinant, prin introducerea unui fragment de ADN uman în molecula plasmidului în prezenţa unei ligaze; 3 – introducerea plasmidului recombinant într-o celulă de E.coli, urmată de amplificarea clonei şi selecţia acesteia

A – celule bacteriene care conţin plasmidul, dar sunt lipsite de fragmentul de ADN uman (clone de E.coli rezistente atât la ampicilină, cât şi la tetraciclină); B - celule bacteriene care conţin plasmidul, iar fragmentul de ADN uman este inserat (clone de E.coli rezistente la tetraciclină, dar sensibile la ampicilină); C – celule bacteriene care nu conţin plasmidul (clone de E.coli sensibile atât la ampicilină, cât şi la tetraciclină);

Izolarea ADN-ului recombinant se bazează pe modificările diferite ale ADN-ului plasmidic şi cele ale ADN-ului din cromosomii bacterieni, în momentul în care sunt supuşi la diverse tipuri de denaturare.

VIII.3.4. CONSTRUCŢIA BIBLIOTECILOR DE GENE

După perfecţionarea tehnicilor de clonare moleculară a apărut necesitatea creării unei colecţii de clone de ADN recombinant, care să conţină toate secvenţele dintr-o sursă ADN genomic sau ADNc. Identificarea

clonei care conține gena dorită din ansamblul clonelor din ***biblioteca sau banca de gene*** a impus realizarea unor tehnici de identificare (screening).

După extragerea întregului ADN genomic dintr-o celulă somatică se realizează fragmentarea sa cu o enzimă de restricție, care produce fragmente de circa 20 Kb. În general, se utilizează concentrații ale enzimei de restricție inferioare celei necesare pentru secționarea tuturor situsurilor de restricție. Astfel, în urma digestiei cu enzima de restricție, ADN-ul genomic este secționat aleatoriu, rezultând fragmente de dimensiuni diferite și care parțial sunt superpozabile. Aceste fragmente sunt inserate într-un vector (bacteriofag λ) vectorul este amplificat în bacterii, rezultând o bancă cu sute de mii de fagi recombinanți, care conțin fragmente de *ADN genomic*.

Pentru a facilita identificarea unei anumite gene au fost constituite colecții de clone, ce corespund anumitor cromosomi.

După identificarea vectorului cu secvența ADN dorită, acesta va fi utilizat pentru clonare și producerea copiilor necesare analizei (identificarea markerilor caracteristici fragmentului, digestia ADN în fragmente ușor de clonat în plasmide și secvențializarea ADN).

VIII.4. METODE DE ANALIZĂ A ACIZILOR NUCLEICI

Analiza relației fundamentale a eredității: "genotip – fenotip" implică analiza fenotipică și genotipică. ***Analiza fenotipică*** vizează studiul manifestărilor genei sau explorarea produselor sale de expresie. Ea prezintă numeroase dificultăți, care pot fi depășite prin explorarea directă a ADN sau analiza genotipică. ***Analiza genotipică*** permite: studiul structurii genei și elucidarea mecanismelor de expresie genică, precum și a modalităților de reglaj, care intervin în procesele biologice fundamentale: diferențierea celulară, morfogeneza, senescența, activitatea sistemului nervos sau a celui imunitar.

Pentru a izola și studia o genă dintr-o colecție (bancă) de fragmente ADN clonate sau pentru a pune diagnosticul molecular al unei boli este necesară utilizarea unei *sonde genotipice* adecvată, care să permită, fie recunoaștrea genei, fie a unor markeri genotipici (secvențe necodante) situați în vecinătatea genei. Această recunoaștere se bazează pe hibridarea moleculară a acizilor nucleici.

VIII.4.1. HIBRIDAREA MOLECULARĂ

Hibridarea moleculară se bazează pe capacitatea de asociere a unei molecule monocatenare de acid nucleic (ADN genomic izolat de la un pacient sau ARNm izolat dintr-un anumit țesut) cu o sondă specifică, complementară. În condiții adecvate, care facilitează asocierea bazelor azotate, conform legii complementarității, sonda se hibridizează numai cu secvența complementară. Pentru a identifica și izola hibridul molecular

sonda este marcată, fie cu un trasor radioactiv, fie cu un reactiv histochimic (figura VIII.6.).

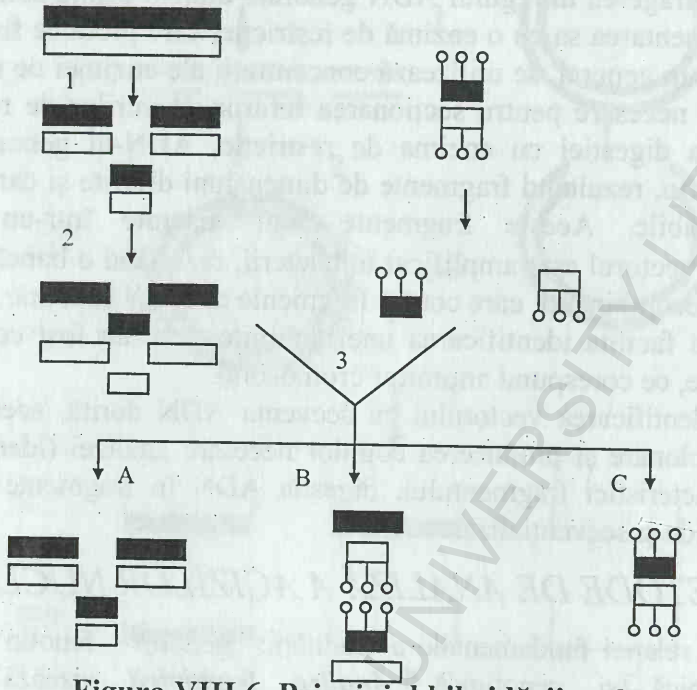


Figura VIII.6. Principiul hibridării moleculare

1 – clivarea ADN-ului nativ cu enzime de restricţie; 2 – denaturarea ADN-ului ţintă şi a sondei; 3- hibridare; A – refacerea duplexului nativ; B – formarea unui heteroduplex între sondă şi secvenţa complementară din ADN-ul nativ; C – refacerea duplexului sondei

Sonda genotipică este o secvenţă oligonucleotidică de ADN sau ARN, de cel puţin 20 nucleotide, omologă unei secvenţe din ADN-ul nativ, care se hibridează în mod specific şi stabil cu aceasta.

Există 3 tipuri de sonde: sonde de ADN convenţional, sonde de ARN şi sonde oligonucleotidice (figura VIII.7.).

Sondele naturale (ADN, ARN) sunt marcate *in vitro*. Marcajul sondelor este efectuat folosind nucleotide activate, marcate specific. Încorporarea acestor nucleotide poate fi realizată în prezenţa unei ADN-polimeraze, situaţie în care întreaga catenă de ADN sintetizată va fi marcată, sau în prezenţa unei polinucleotid-kinaze, situaţie în care doar capătul sondei va fi marcat.

Sondele pot fi marcate *izotopic* sau *nonizotopic*. În cazul unui marcaj izotopic evidenţierea probei se face prin *autoradiografie*. Cel mai folosit izotop este cel de ^{32}P, care are avantajul că emite o radiaţie β puternică, dar are dezavantajul unui timp de înjumătăţire scurt (14 zile).

Marcajul nonizotopic a dobândit o aplicabilitate crescută, datorită absenţei riscului de contaminare radioactivă. El se bazează pe capacitatea de

cuplare chimică a unei molecule modificată ("*reporter*") la un precursor nucleotidic. După încorporarea nucleotidelor marcate în molecula de ADN, acestea pot fi detectate datorită fixării specifice a unui ligand marcat.

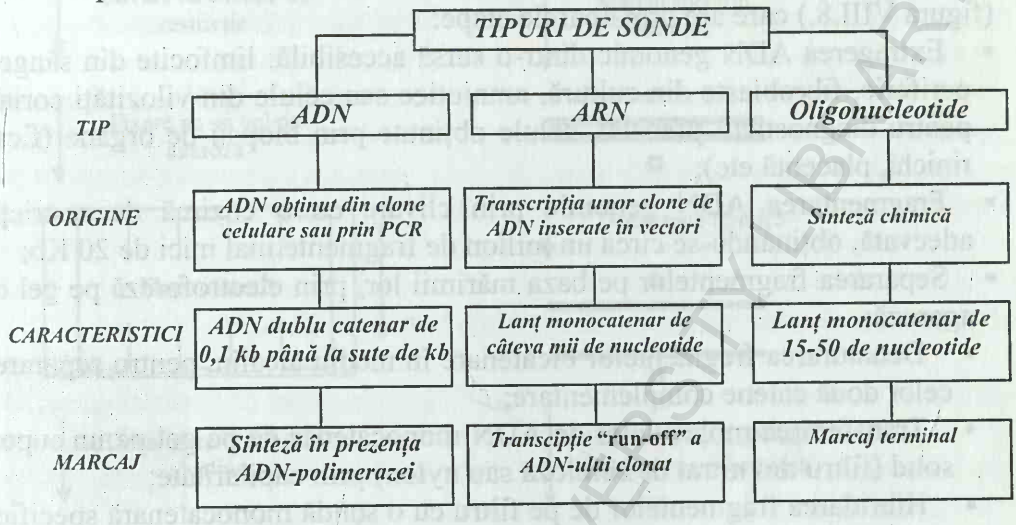


Figura VIII.7 Tipuri de sonde

Principalele substanțe utilizate ca liganzi sunt: biotina şi digoxigenina. Ele se ataşează la nucleotidele marcate printr-o catenă alifatică lungă, astfel încât ambii liganzi vor fi localizați la o distanță relativ mare de molecula de ADN, ceea ce facilitează recunoaşterea hibridării.

Biotina este recunoscută pe baza afinității acesteia pentru streptavidină, în timp ce recunoaşterea digoxigeninei este realizată prin utilizarea unor anticorpi anti-digoxigenină.

Obținerea unei sonde specifice necesită izolarea şi clonarea prealabilă a genei sau a markerului genei. Există două tipuri de sonde: directe şi indirecte.

Sondele directe corespund genei analizate. Ele pot fi sonde de ADN genomic sau ADNc, obținute din băncile corespunzătoare prin tehnologia ADN recombinant, ribosonde, alcătuite din ARN, oligosonde de sinteză (secvențe scurte de ADN monocatenar obținute pe baza, fie a secvenței unei părți de genă , fie a secvenței de aminoacizi a proteinei produsă de genă) sau a sondei de ADN străin .

Sondele indirecte (sonde anonime) sunt fragmente de ADN intergenic, ce provin dintr-o bancă de ADN genomic şi care pun în evidență polimorfismul de restricție (RFLP) folosit ca marker genetic.

VIII.4.2. ANALIZA ADN GENOMIC

Sub denumirea de *ADN genomic* se înțelege: ADN nuclear (cromozomic) extras din celule diploide. El reflectă genotipul constituțional,

care, în principiu, este identic cu ADN-ul zigotului format prin fuziunea gameților parentali.

Principala metodă de analiză genomică este metoda Southern blott (figura VIII.8.) care are următoarele etape:

- Extragerea ADN genomic dintr-o sursă accesibilă: limfocite din sângele periferic, fibroblaste din cultură, amniotice sau celule din vilozități coriale pentru diagnosticul prenatal, celule obținute prin biopsii de organe (ficat, rinichi, placentă etc);
- Fragmentarea ADN genomic prin clivare cu o enzimă de restricție adecvată, obținându-se circa un milion de fragmente mai mici de 20 Kb;
- Separarea fragmentelor pe baza mărimii lor, prin electroforeză pe gel de agaroză;
- Denaturarea fragmentelor bicatenare în mediu alcalin, pentru separarea celor două catene complementare;
- Transferarea moleculelor de ADN monocatenar de pe gel pe un suport solid (filtru din nitrat de celuloză sau nylon) prin capilaritate;
- Hibridarea fragmentelor de pe filtru cu o sondă monocatenară specifică şi marcată radioactiv sau nonizotopic. Pe baza legii complementarității, sonda se asociază doar cu secvența complementară din unele fragmnte de ADN genomic.
- Duplexul format de fragmente (ADN şi sondă) este rezistent la spălare şi poate fi evidențiat datorită emisiei radioactive (marcaj izotopic) sau prin recunoaştereea specifică a ligandului nonizotopic.

Utilizarea metodei Southern pentru analiza genotipică presupune cunoaşterea prealabilă a hărții situsurilor de restricție pentru domeniul genomic explorat, ceea ce permite alegerea unui cuplu adecvat enzimă de restricție - sondă.

Rezultatele obținute se compară cu profilul normal al domeniului genomic explorat de sondă, fiind posibilă evidențierea a două tipuri de mutații:

- Deleții sau inserții mai mari de 50-100 perechi de baze, care modifică lungimea fragmentelor de restricție; dacă deleția este totală, atunci secvența genică lipseşte, iar sonda nu dă nici un semnal;
- Mutații punctiforme, ce afectează o singură pereche de baze şi crează sau distrug un *situs de restricție* al enzimei folosite, antrenând o modificare a lungimii fragmentelor.

Analiza cu sonde oligonucleotidice specifice unei alele (ASO). Metoda utilizează *sonde oligonucleotidice*, care permit detecția mutațiilor punctiforme, care afectează o singură pereche de baze azotate.

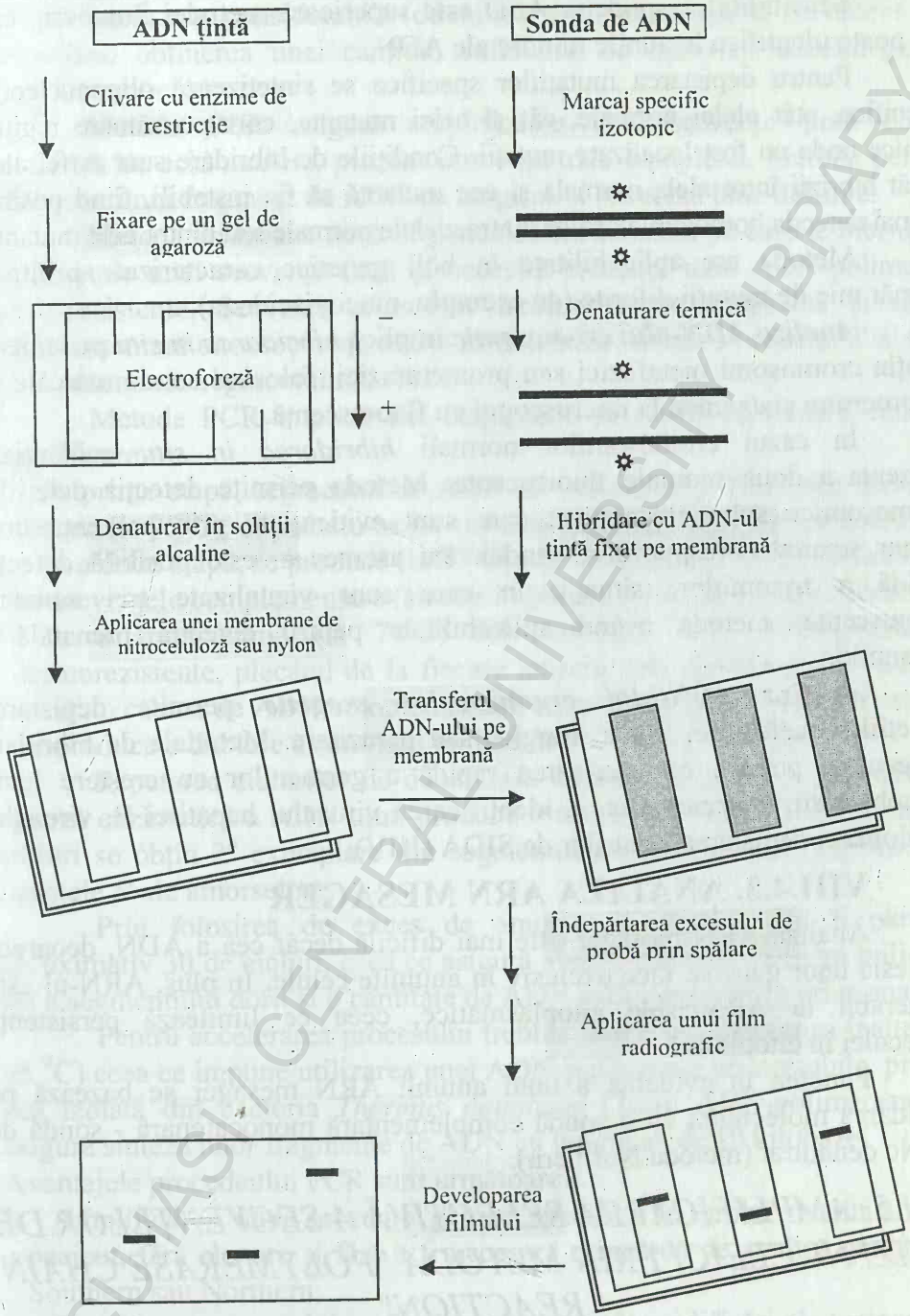


Figura VIII.8. Principiul metodei Southern blott

BCU IAȘI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Sensibilitatea sondelor ASO este superioară metodei Southern, care nu poate identifica leziunile minore ale ADN.

Pentru depistarea mutațiilor specifice se sintetizează oligonucleotide specifice, atât alelei normale, cât şi celei mutante, corespunzătoare regiunii genice unde au fost localizate mutații. Condițiile de hibridare sunt astfel alese încât hibrizii între alela normală şi cea mutantă să fie instabili, fiind posibilă numai detecția homoduplexurilor dintre alelele normale sau dintre cele mutante.

Metoda are aplicabilitate în boli genetice caracterizate printr-un număr mic de mutații diferite (de exemplu, mucoviscidoza).

Analiza ADN-ului cromosomic implică *hibridarea in situ* pe lame ce conțin cromosomi metafazici sau prometafazici, folosind sonde marcate cu fluorocromi şi examen la microscopul cu fluorescență.

În cazul cromosomilor normali *hibridarea in situ* evidențiază prezența a două semnale fluorescente. Metoda permite detecția delețiilor cromosomice submicroscopice, care sunt evidențiate prin prezența unui singur semnal corespunzător sondei. De asemenea, este posibilă detecția rapidă a trisomiilor, situație în care sunt vizualizate trei semnale fluorescente, metoda având aplicabilitate pentru detecția prenatală a trisomiilor.

Analiza ADN-ului organismelor exogene permite depistarea infecțiilor bacteriene, virale, fungice sau parazitare. Metodele de hibridare moleculară permit: caracterizarea rapidă a germenilor cu creştere lentă (micobacterii, treponeme etc.), identificarea virusului hepatitei B, virusului papiloma şi depistarea cazurilor de SIDA (HIV).

VIII.4.3. ANALIZA ARN MESAGER

Analiza ARN mesager este mai dificilă decât cea a ADN, deoarece expresia unor gene se face exclusiv în anumite celule. În plus, ARN-ul este vulnerabil la ARN-azele citoplasmatice, ceea ce limitează persistența moleculei în citoplasmă.

Punerea în evidență a unui anumit ARN mesager se bazează pe hibridarea moleculară cu o sondă complementară monocatenară - sondă de ADNc denaturat (metoda Northern).

VIII.5. AMPLIFICAREA SELECTIVĂ A SECVENȚELOR DE ACIZI NUCLEICI PRIN METODA "POLYMERASE CHAIN REACTION"

Analiza genotipică a fost perfecționată prin introducerea tehnicii de polimerizare în lanț (***Polymerase Chain Reaction*** - PCR). Această metodă permite *amplificarea selectivă* a unei secvențe scurte de ADN sau ARN.

Amplificarea este considerabilă (de milioane de ori) şi rapidă (în câteva ore) permiţând obţinerea unei cantităti suficiente de material, necesar pentru analize.

Metoda PCR asigură amplificarea unei secvenţe ţintă dintr-o moleculă de acid nucleic, prezent într-o matrice complexă. Metoda permite obţinerea unui fragment de ADN cu lungime şi secvenţă bine definite.

Metoda utilizează două oligonucleotide amorse, pe care le hibridează la capetele unei secvenţe ţintă şi necesită prezenţa unei ADN-polimeraze termorezistente. Secvenţa amorselor trebuie să fie cunoscută şi să fie complementară unei secvenţe de 20-25 nuleotide, situate la capătul 3' al celor două catene ale segmentului de ADN.

Metoda PCR implică trei etape care se repetă la fiecare ciclu de amplificare:

- În prima etapă, segmentul de ADN ce trebuie amplificat este denaturat termic (la 95°C), obţinându-se un amestec de fragmente monocatenare;
- În a doua etapă, se produce (la 37°C) poziţionarea şi hibridarea amorselor la secvenţele complementare (situate în poziţia 3') de pe fiecare catenă.
- In a treia etapă (la 70°C) sub acţiunea unei ADN-polimeraze termorezistente, plecând de la fiecare amorsă este sintetizată, în sensul 5' → 3', o catenă de ADN complementară catenei matrice. În circa 10 minute se produce o dublare a cantităţii iniţiale de ADN (figura VIII.9.).

Repetarea ciclurilor de denaturare termică, hibridare a amorselor şi sinteză enzimatică a ADN-ului, produce o amplificare exponenţială: după n cicluri se obţin 2^n exemplare din segmentul iniţial de ADN (cuprins între capetele 5' ale amorselor).

Prin folosirea de exces de amorsă şi enzimă, pot fi parcurse aproximativ 30 de cicluri, ceea ce asigură amplificarea de circa un milion de ori a segmentului dorit şi o cantitate de ADN suficientă pentru orice analiză.

Pentru accelerarea procesului trebuie utilizate temperaturi înalte (70-95 ^{0}C) ceea ce impune utilizarea unei ADN-polimeraze termostabile, precum cea izolată din bacteria *Thermus aquaticus* (Taq). ADN-polimeraza *Taq* asigură sinteza unor fragmente de ADN cu lungimea de 10 kilobaze.

Avantajele procedeului PCR sunt următoarele :

- Amplificarea unei secvenţe genice specifice în proba recoltată de la pacient, fără clonare şi fără a fi necesară o metodă de analiză genotipică: Southern sau Northern;
- Simplitatea procesului, nefiind necesare decât modificări ale temperaturii reacţiei, astfel încât metoda se pretează la automatizare;
- Rapiditatea (după 25 de cicluri de 3-5 minute pentru fiecare copie, o genă poate fi amplificată de milioane de ori în câteva ore) şi costul redus;

BIBLIOTECA CENTRALĂ UNIVERSITARĂ "GRIGORE ANTIPA" BIOLOGIE

- Sensibilitatea deosebită, astfel încât este posibilă amplificarea unei secvenţe de ADN provenit dintr-o singură celulă;
- Specificitatea se corelează cu hibridarea ADN-ului, cu amplificarea exponenţială a fragmentelelor complementare şi cu un grad înalt de fidelitate a sintezei ADN.

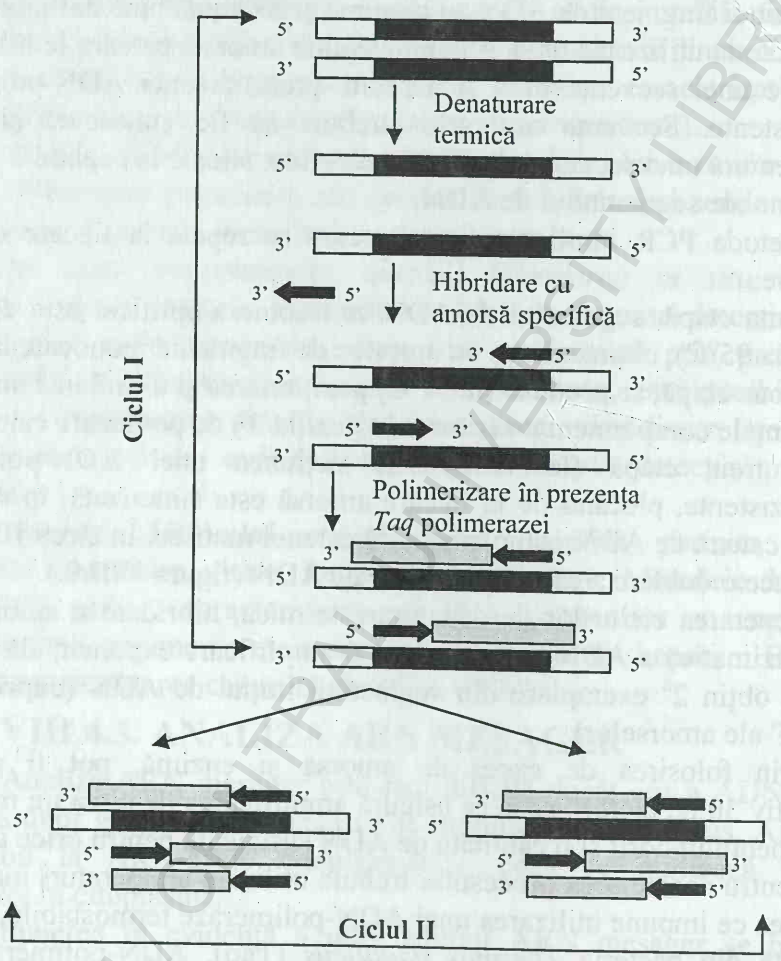


Figura VIII.9. Principiul tehnicii PCR

Aplicabilitatea metodei PCR este limitată de lungimea segmentului amplificat care, în general, nu depăşeşte 3 kb. Metoda permite amplificarea secvenţelor de ADN: genomic, mitocondrial, exogen sau complementar şi are aplicabilitate în bolile genetice, al căror defect molecular este cunoscut.

Sensibilitatea PCR permite detectarea agenţilor patogeni ai bolilor infecţioase, chiar dacă concentraţia acestora este foarte mică sau se găsesc în stare latentă (de exemplu, detecţia virusului C în hepatita virală tip C). De asemenea, metoda poate fi aplicată în biologie pentru studii evoluţioniste, deoarece permite amplificarea secvenţelor de ADN prelevate din fosile.

Utilizarea PCR pentru analiza particularităților ADN-ului unor indivizi diferiți este de interes în medicina legală pentru teste de paternitate, în timp ce posibilitatea analizei de probe vechi sau degradate, rapiditatea, şi înalta specificitate şi sensibilitate are aplicabilitate în criminalistică.

VIII.6. ANALIZA SECVENȚEI NUCLEOTIDELOR

După izolarea şi amplificarea unui fragment de ADN este necesară determinarea secvenței nucleotidice, corespunzătoare informației genetice. Această analiză este decisivă pentru: stabilirea structurii genei şi a secvenței de aminoacizi din proteina codificată de genă. Stabilirea secvenței nucleotidice este utilă şi pentru sinteza oligosondelor specifice pentru o alelă (ASO) şi a amorselor folosite în tehnica PCR, având aplicații în diagnosticul molecular. Metodele folosite pentru determinarea secvenței nucleotidice a unor fragmente de ADN sunt: degradarea chimică şi sinteză enzimatică.

VIII.6.1. METODA CHIMICĂ MAXAN - GILBERT

Metoda se bazează pe tratarea chimică a ADN cu substanțe, care distrug inițial una din bazele azotate şi apoi dezoxiriboza.

Molecula de ADN ce trebuie secvențializată este denaturată, devenind monocatenară, catenele fiind apoi, marcate cu ^{32}P la extremitatea 5'.

Ansamblul monocatenar este repartizat în patru eşantioane, care sunt supuse unui tratament chimic, ce alterează specific una dintre baze. Îndepărtarea bazei şi distrucția chimică a dezoxiribozei prin tratare cu piperidină se soldează cu secționarea catenei, rezultând fragmente, a căror dimensiune depinde de poziția bazei respective.

Copiile secvenței monocatenare sunt secționate o dată, într-un situs ce corespunde bazei degradate chimic, rezultând două fragmente. Unul dintre acestea va fi marcat radioactiv şi va avea o lungime egală cu distanța dintre punctul de marcaj şi situsul de secționare.

Fragmentele sunt separate prin electroforeză, fiind evidențiate sub forma unor benzi succesive pe autoradiogramă.

VIII.6.2. METODA ENZIMATICĂ SANGER

In principiu, se sintetizează o catenă de ADN complementară fragmentului cu secvență necunoscută, cu ajutorul ADN-polimerazei şi a unei amorse marcate cu radioizotopi sau fluorocromi. Reacția poate fi inhibată, stopată în dreptul unei anumite nucleotide prin folosirea unor analogi nucleotidici, de tipul didezoxinucleotidelor.

Metoda de sinteză enzimatică SANGER este din ce în ce mai mult folosită, fiind perfecționată continuu. Prin folosirea ca vectori a unor plasmide de generația III-a pot fi secvențializate molecule de ADN

bicatenar. Utilizarea unor secvenţializatoare automate a micşorat considerabil timpul necesar determinării secvenţei unui acid nucleic.

VIII.7. METODE DE ANALIZĂ A PROTEINELOR

Analiza structurii genelor trebuie completată cu studiul funcţiei sau expresiei lor, la nivelul proteinelor. În cazul mutaţiilor genice este important de stabilit defectul molecular al proteinelor codificate şi modul în care ele produc un fenotip anormal. Pentru studiul proteinelor mutante, extrase din celulele pacienţilor cu boli genetice, se foloseşte un procedeu similar metodelor Southern şi Northern, denumit "*Western blotting*".

Proteinele izolate dintr-un extract celular sunt separate prin electroforeză, în gel de poliacrilamidă, pe baza lungimii lor. Apoi ele sunt transferate pe un filtru de nitrat de celuloză şi tratate cu anticorpi specifici proteinei respective. Complexul proteină - anticorp este identificat cu un anti-anticorp, marcat radioactiv sau fluorescent, ce recunoaşte primul anticorp folosit în reacţie. Stabilirea secvenţei de aminoacizi a proteinei este utilă, atât pentru analiza şi sinteza proteinei, cât şi pentru izolarea genei corespunzătoare. Astfel, pe baza secvenţei de aminoacizi a unei părţi de proteină poate fi sintetizată o oligonucleotidă, cu o secvenţă echivalentă de baze azotate.

Oligonucleotida poate fi utilizată ca sondă pentru identificarea clonei corespunzătoare într-o bibliotecă de ADN genomic sau ADN complementar.

Tehnicile de secvenţiere a proteinelor se bazează pe clivarea chimică sau enzimatică a proteinei în polipeptide de 15-30 aminoacizi, care pot fi secvenţiate de analizoare automate, începând cu capătul amino al polipeptidelor.

Majoritatea bolilor moleculare sunt determinate de absenţa sau pierderea funcţiei unor proteine, iar tratamentul posibil este cel substitutiv, fiind preferabilă administrarea de proteine de origine umană, deoarece proteinele exogene sunt potenţial imunogene. Prin metodele clasice, fie nu pot fi obţinute proteine umane (de exemplu, insulina) fie fabricarea unor cantităţi mari ridică probleme de disponibilitate şi de contaminare virală (de exemplu, fabricarea factorului VIII necesită sute de prelevări sanguine, care cresc riscul contaminării cu virus HVB sau HIV). În aceste cazuri producţia de proteine de substituţie prin inginerie genetică este soluţia ideală.

Pe această cale au fost sintetizate: insulina, hormonul de creştere streptokinaza (substanţă folosită în infarctul miocardic) factorul VIII al coagulării (pentru tratamentul hemofiliei A) eritropoietina (pentru tratamentul anemiilor) interferoni (cu acţiune citostatică şi antivirală).

Concomitent, este în atenţie producţia de vaccinuri (prin folosirea fracţiei virale proteice) şi sinteza de liganzi biologici (proteine, enzime).

IX. CONSULTUL GENETIC

Termenul de boală este definit prin orice modificare a structurii şi/sau funcţiei normale a organismului, generată de cauze exogene sau endogene.

În raport cu intervenţia factorilor genetici bolile umane pot fi clasificate în trei categorii: boli genetice (determinate predominant de mutaţii) boli multifactoriale (produse de interacţiunea factorilor genetici şi a celor de mediu) şi boli ecologice – negenetice (produse de factorii ambientali). Totuşi, chiar şi în afecţiunile ecologice există o componentă genetică, deoarece răspunsul diferenţiat al organismului la acţiunea unor elemente exogene (microorganisme, alimente, medicamente, produse toxice) sau refacerea leziunilor determinate de factori ambientali sunt condiţionate de mecanisme determinate genetic.

Bolile genetice sunt cauzate de mutaţii (genomice, cromosomice sau genice) iar *grosso-modo*, termenul de boală genetică cuprinde atât maladiile monogenice sau cromosomice (produse aproape exclusiv de factorii genetici) cât şi bolile multifactoriale (în al căror determinism există o componentă genetică manifestă prin predispoziţia la boală, dar şi o serie de factori nocivi ambientali).

Consultul genetic este un act medical specializat şi complex, efectuat de un medic specialist în Genetică medicală şi care vizează stabilirea unui diagnostic de certitudine a bolii, precizarea implicării factorilor genetici în patogenia afecţiunii şi care, obligatoriu, trebuie finalizat prin acordarea sfatului genetic atât bolnavului, cât şi familiei acestuia.

IX.1. CLASIFICAREA BOLILOR GENETICE

În funcţie de tipul de modificări genetice, de localizarea şi acţiunea lor – se pot deosebi cinci categorii de boli genetice: boli cromosomice, boli monogenice, boli mitocondriale, boli multifactoriale şi boli produse prin mutaţii ale genomului celulelor somatice.

IX.1.1. BOLILE CROMOSOMICE.

Bolile cromosomice sunt produse de mutaţii genomice sau cromosomice, care cauzează anomalii cromosomice de număr sau structură. Practic în bolile cromosomice, modificările structurii ADN-ului pot fi observate la microscopul optic (prin tehnici clasice sau tehnici de citogenetică moleculară).

Studiile de citogenetică clasică au estimate că frecvenţa anomaliilor cromosomice la nou-născuţii vii este de aproximativ 6‰. În condiţiile în care se adaugă şi valorile furnizate de studiile de citogenetică moleculară, frecvenţa

bolilor cromosomice se apropie de 10‰ de nou-născuţi vii. Frecvenţa anomaliilor cromosomice este însă mult mai mare în stadiile incipiente ale ontogenezei, în condiţiile în care 50% din avorturile spontane din I-ul trimestru de sarcină au cauză cromosomică, iar 5% din nou-născuţii morţi prezintă o anomalie cromosomică neechilibrată.

Anomaliile cromosomice neechilibrate (numerice sau structurale) determină circa 600 de sindroame plurimalformative. Indiferent de tip anomaliile cromosomice neechilibrate au o serie de trăsături comune: determină tulburări de creştere şi dezvoltare pre- şi postnatală, induc un retard mental şi comportamental, generează tulburări de reproducere şi produc un sindrom plurimalformativ caracteristic fiecărei anomalii cromosomice.

Anomaliile cromosomice structurale echilibrate nu modifică fenotipul pacientului, dar pot genera tulburări de reproducere, manifestate prin sterilitate sau infertilitate.

Ponderea majoră a bolilor cromosomice în patologia umană este atestată şi de faptul că anomaliile cromosomice sunt cauze principale ale anomaliilor congenitale multiple, retardului mintal sau tulburărilor de reproducere.

IX.1.2. BOLILE MONOGENICE.

Bolile monogenice sunt produse de mutaţia unei gene sau pereche de gene din ADN-ul nuclear. Bolile monogenice sunt considerate şi boli mendeleene, deoarece transmiterea ereditară a mutaţiei respectă legile enunţate de Gr. Mendel. În funcţie de raportul de forţă dintre alela mutantă şi cea normală, respectiv localizarea cromosomică a genei mutante, bolile monogenice se împart în: boli dominant autosomale, boli dominante legate de cromosomul X, boli recesiv autosomale şi boli recesive legate de cromosomul X.

Frecvenţa globală a bolilor monogenice la nou-născut este estimată la aproximativ 3%, dar probabil această valoare este subestimată, iar introducerea tehnicilor de genetică moleculară vor permite reajustări adecvate. Majoritatea acestor afecţiuni sunt rare sau foarte rare. În schimb, numărul de maladii monogenice este de aproxiamtiv 9.000.

Bolile monogenice pentru care se cunoaşte gena mutantă, tipul de mutaţie(i) specifică(e) bolii, proteina anormală codificată de gena mutantă şi mecanismul patogen prin care aceasta generează efectele primar, secundar şi terţiar sunt considerate boli moleculare. Ponderea acestor maladii în totalul bolilor monogenice este de circa 40%.

IX.1.3. BOLILE MITOCONDRIALE

Bolile mitocondriale sunt boli monogenice produse de mutaţii la nivelul ADN-ului mitocondrial. În condiţiile în care mitocondria este uzina energetică

a celulei, bolile mitocondriale au o severitate crescută şi sunt caracterizate prin perturbarea proceselor energetice în special în muşchi şi nervi. Bolile mitocondriale au o transmitere matriliniară, ţinând cont de faptul că zigotul moşteneşte întreaga citoplasmă şi, implicit, şi mitocondriile de la mamă, prin intermediul ovulelor. Astfel o femeie afectată va avea toţi copiii bolnavi, în timp ce un bărbat bolnav va avea toţi copiii sănătoşi. Bolile mitocondriale sunt rare, iar numărul lor nu depăşeşte 60.

IX.1.4. BOLILE MULTIFACTORIALE

Bolile multifactoriale sunt afecţiuni determinate de interacţiunea factorilor genetici cu cei de mediu. Componenta genetică este poligenică, fiind reprezentată de acţiunea redusă, dar care se însumează a mai multor perechi de gene care ocupă loci diferiţi. Factorii genetici asigură o predispoziţie genetică, adică o vulnerabilitate particulară la acţiunea factorilor nocivi de mediu. Transformarea predispoziţiei genetice în boală este condiţionată de acţiunea coroborată a factorilor genetici şi a celor de mediu. Studiul bolilor multifactoriale a relevat distribuţia familială a afecţiunii, dar fără a exista o transmitere ereditară de tip mendelean.

Bolile multifactoriale sunt afecţiuni frecvente, interesând aproximativ 10% din populaţie. Ele pot fi grupate în două mari categorii. Anomaliile congenitale izolate şi retardul mental izolat pot fi identificate la copil şi au o incidenţă globală de 20-30‰. Bolile comune ale adultului sunt maladii care afectează individual mai mult de 1/1000 de indivizi şi a căror frecvenţă globală este de 50-70 ‰.

IX.1.5. BOLI PRIN MUTAŢII ALE GENOMULUI SOMATIC

Mutaţiile genomului somatic sunt consecinţa unui proces mutaţional ce se desfăşoară continuu pe parcursul vieţii şi afectează diverse gene implicate în creşterea şi dezvoltarea celulară. Astfel, aceste mutaţii au caracter clonal, sunt limitate la anumite ţesuturi şi nu se transmit la descendenţi. În unele cazuri, o anumită mutaţie este moştenită de la un părinte, ceea ce generează o predispoziţie genetică pentru afecţiunea respectivă, dar apariţia bolii este condiţionată de acumularea şi a altor mutaţii în gene diferite. Exemple de astfel de afecţiuni sunt: majoritatea cancerelor, unele boli autoimune, precum şi bolile caracterizate prin degenerescenţă şi îmbătrânire precoce. Global, aceste boli afectează aproximativ un sfert din populaţia adultă, iar această valoare s-ar putea să crească în condiţiile creşterii speranţei de viaţă.

IX.2. PARTICULARITĂŢILE GENERALE ALE BOLILOR GENETICE

În cazul bolilor umane, există întotdeauna o componentă genetică, uneori extrem de importantă, alteori abia detectabilă. Identificarea prezenţei componentei ereditare este esenţială în consultul genetic, dar deseori este dificilă. Prezenţa acestei componente poate fi sugerată de existenţa unora dintre următoarele particularităţi: distribuţia familială, transmiterea genealogică, manifestarea congenitală, identitatea caracterului la gemenii monozigoţi, asocierea cu un marker genetic, prezenţa de proteine anormale, prezenţa unor anomalii cromosomice sau frecvenţa diferită în populaţii diferite. Totuşi, nici unul din aceste criterii, luat separat, nu are valoare absolută şi nu permite stabilirea naturii ereditare a unui caracter, acest lucru fiind posibil numai în condiţiile în care mai multe particularităţi sunt prezente concomitent.

IX.2.1. DISTRIBUŢIA FAMILIALĂ

Distribuţia familială a unui caracter ereditar este reprezentată de frecvenţa mai mare a anomaliei la membrii unei familii comparativ cu populaţia generală.

Acest criteriu nu este absolut şi nici suficient pentru a stabili natura ereditară a unei boli, deoarece uneori o boală ereditară poate apare sporadic, fiind consecinţa unei mutaţii de novo. În plus, există boli neereditare care au concentrare familială crescută, cum ar fi: guşa endemică, tuberculoza, intoxicaţiile etc.

Pentru aprecierea distribuţiei familiale a unui caracter se foloseşte *testul concentrării familiale*, care reprezintă raportul dintre incidenţa afecţiunii la rudele probanzilor, faţă de incidenţa afecţiunii în populaţia generală. O valoare mai mare de 2 indică o componentă genetică importantă.

IX.2.2. TRANSMITEREA GENEALOGICĂ

Transmiterea genealogică se caracterizează prin moştenirea unui caracter de la părinţi şi transmiterea lui la descendenţi.

Nu este un criteriu absolut, deoarece pot exista caractere ereditare care nu se transmit la descendenţi – de exemplu disgeneziile gonadice de tipul 45,X (sindrom Turner) şi 47,XXY (sindrom Klinefelter) deşi sunt afecţiuni genetice, datorită sterilităţii primare pe care o induc nu se pot transmit la descendenţi. O situaţie similară este întâlnită în bolile genetice care determină decesul persoanelor înainte de a atinge vârsta reproductivă (de exemplu distrofia musculară Duchenne). În schimb, unele caractere neereditare pot fi transmise transplacentar de la mamă la copii, mimând o transmitere genealogică (de

exemplu, o femeie cu sifilis va naşte un copil cu sifilis congenital, datorită trecerii parazitului *Treponema pallidum* prin bariera placentară).

IX.2.3. MANIFESTAREA CONGENITALĂ

Manifestarea congenitală, caracterizată prin prezenţa unei afecţiuni de la naştere, nu este valabilă pentru toate bolile ereditare, deoarece unele boli de natură ereditară nu se manifestă la naştere (de exemplu hipodonţia sau anomaliile aparatului reproductiv). Pe de altă parte, nu orice caracter congenital este şi ereditar, deoarece există numeroase malformaţii congenitale datorite acţiunii factorilor de mediu asupra fătului – de exemplu focomelia[78] indusă de tratamentul simptomatic al greţurilor cu talidomidă din timpul sarcinii.

IX.2.4. IDENTITATEA CARACTERULUI LA GEMENII MONOZIGOŢI

Gemenii monozigoţi sunt genetic identici, deoarece provin din aceeaşi celulă, în timp ce gemenii dizigoţi diferă genetic, fiind doi fraţi obişnuiţi care însă s-au dezvoltat în acelaşi timp. Datorită acestor particularităţi, în cazul prezenţei unei afecţiuni provocate exclusiv de modificări genetice, concordanţa afectării este de 100% la gemenii monozigoţi. Dacă afecţiunea sau caracterul normal este multifactorial, concordanţa la gemenii monozigoţi scade, dar valoarea acesteia este mai mare decât cea observată la gemenii dizigoţi. Prin compararea concordanţelor la gemenii monozigoţi şi dizigoţi se poate identifica valoarea participării componentei genetice[79].

IX.2.5. ASOCIEREA CU UN MARKER GENETIC

În unele cazuri, prin studii statistice, a fost identificată asocierea unei boli genetice cu un caracter fenotipic normal, considerat marker genetic. Asocierea poate fi explicată prin mai multe mecanisme: genele pentru cele două caractere sunt înlănţuite, ocupând loci învecinaţi, una din gene favorizează apariţia unei tulburări independente (de exemplu frecvenţa crescută a ulcerului duodenal la persoanele cu grup sanguin 0) respectiv unele gene pot avea efecte multiple (pleiotrope).

IX.2.6. APARIŢIA SPONTANĂ

În multe boli genetice există în diverse familii cazuri izolate, a căror apariţie poate fi explicată de prezenţa unor mutaţii noi. Această particularitate trebuie obligatoriu analizată asociat cu alte particularităţi.

---

[78] Focomelie – anomalie congenitală caracterizată prin ataşarea mâinilor şi plantelor direct la centura scapulară, respectiv pelvină, celălalte segmente ale membrelor fiind absente

[79] Vezi capitolul Ereditatea şi bolile multifactoriale

IX.2.7. PREZENȚA ANOMALIILOR CROMOSOMICE

Orice anomalie cromosomică este şi genetică, deoarece implică afectarea unor segmente mai mari sau mai mici de material genetic. Totuşi, analiza cromosomică nu este obligatorie în toate afecțiunile presupuse genetice, deoarece metoda este incapabilă să detecteze mutații genice. De aceea, un cariotip normal nu exclude prezența unui caracter anormal la subiectul cercetat.

IX.2.8. FRECVENȚA DIFERITĂ ÎN POPULAȚII DIFERITE

Frecvența diferită a genelor în diverse populații este rezultatul unei selecții naturale, al cărei efect a fost concentrarea anumitor gene într-o anumită regiune geografică. De exemplu, unele mutații genice, precum cele care determină deficiența în glucozo-6-fosfat-dehidrogenază sau unele hemoglobinopatii sunt mai frecvente în zonele în care malaria este o maladie endemică, deoarece heterozigoții pentru aceste afecțiuni sunt imuni la acțiunea parazitului (*Plasmodium falciparum)* care determină paludismul. În condițiile în care mult timp malaria a fost o boală incurabilă, heterozigoții pentru bolile citate mai sus aveau o speranță de viață mai mare decât cea a indivizilor normali, iar prin căsătoria lor cu indivizi de asemenea heterozigoți a fost favorizată perpetuarea şi creşterea frecvenței mutației în populația respectivă.

O altfel de situație există în cazul izolatelor geografice, etnice sau religioase, în care prin căsătoriile consanguine s-a realizat un fond comun de gene mutante.

IX.3. EFECTUL BOLILOR GENETICE ASUPRA STĂRII DE SĂNĂTATE

Efectele bolilor genetice (cromosomice, monogenice, multifactoriale, prin mutații ale genomului somatic) asupra stării de sănătate a unei populații sunt importante şi variate.

Bolile genetice sunt numeroase, fiind cunoscute mai mult de 14.000 de afecțiuni genetice sau condiționate genetic. Majoritatea acestor maladii sunt rare sau foarte rare, dar o serie de boli genetice au o frecvență mare de 1:500 – 1:10.000 nou-născuți.

Un alt aspect al bolilor genetice este marea diversitate şi afectarea concomitentă a mai multor țesuturi sau organe. În aceste condiții, nu este de mirare că patologia genetică este prezentă în aproape toate specialitățile medicale, având o pondere mai mult sau mai puțin importantă.

Bolile genetice, luate global, au o frecvență crescută. Astfel, se estimează că aproximativ 5-8% din nou-născuți manifestă o boală genetică și că cel puțin 30-40% din indivizi vor face pe parcursul vieții o maladie genetică sau condiționată genetic. Dacă adaugăm și tulburările de reproducere (sterilitate și avorturi spontane) se poate estima că aproximativ jumătate din indivizi au o boală cu determinism complet sau parțial genetic.

Bolile genetice constituie o cauză majoră de morbiditate și mortalitate infantilă, mai ales în țările civilizate. Astfel, maladiile genetice cauzează aproximativ 50% din decesele infantile și circa jumătate din internările din spitalele pediatrice.

Bolile genetice sunt afecțiuni cronice și, de regulă, au o evoluție invalidantă, generând un handicap fizic, psihic sau mixt. Datorită acestor particularități, afecțiunile genetice determină cheltuieli crescute din partea familiei și/sau societății pentru îngrijirea bolnavilor cu handicap.

În majoritatea cazurilor, bolile genetice nu beneficiază de un tratament specific, bazat pe mecanismul patogen, dar în schimb, în bună măsură, apariția lor poate fi prevenită. În acest scop este necesară implementarea unor programe naționale de screening și diagnostic prenatal, respectiv de screening neonatal sau familial, care să asigure depistarea precoce a principalelor afecțiuni genetice.

Ținând cont de datele prezentate mai sus, bolile genetice constituie o reală problemă de sănătate publică, deoarece au o frecvență globală mare, sunt grave și invalidante, se transmit ereditar și pot fi prevenite. În acest sens, este necesară sensibilizarea Ministerului Sănătății despre importanța Geneticii medicale, cu scopul creării unei rețele naționale de centre și cabinte de genetică care să se ocupe de diagnosticul și îngrijirea pacienților cu boli genetice precum și de familiile lor, prin: sfat genetic, diagnostic prenatal, screening neonatal sau diagnostic presimptomatic.

IX.4. OBIECTIVELE CONSULTULUI GENETIC

Consultul genetic este realizat de **medicul genetician.** Rolul acestuia este de a integra diagnosticul inițial al altor specialiști cu elementele examenului clinic, în coroborare cu datele teoretice referitoare la numeroasele sindroame din domeniu și criteriile de diferențiere între entități asemănătoare. Consultul genetic vizează trei obiective: stabilirea diagnosticului bolii, estimarea implicării factorilor genetici în patogenia bolii și acordarea sfatului genetic.

Este obligatoriu ca **diagnosticul bolii** să fie corect și complet, prin identificarea tuturor semnelor și simptomelor și verificarea tuturor aparatelor și sistemelor. Pentru realizarea acestor deziderate sunt necesare ***colaborări***

interdisciplinare cu alţi clinicieni sau specialişti în explorări, *geneticianul* fiind cel care stabileşte diagnosticul final.

Stabilirea naturii sau a componentei genetice a bolii este o activitate specifică medicului genetician, care permite diferenţierea bolilor genetice de cele condiţionat genetice sau negenetice. Aceasta se realizează prin anamneză familială şi explorări genetice (analize citogenetice sau moleculare).

Sfatul genetic este un act medical specific prin care bolnavul sau rudele cu risc primesc informaţii de la medicul genetician referitoare la natura şi consecinţele bolii, riscul de recurenţă şi căile prin care riscul poate fi redus sau prevenit.

IX.4.1. CIRCUMSTANŢELE DE ACORDARE ŞI INDICAŢIILE CONSULTULUI GENETIC

Consultul genetic este acordat de regulă în două situaţii: premarital şi postmarital. Premarital efectuarea consultului genetic se impune când viitorul cuplu este consanguin, unul din membrii cuplului este afectat, în familia unuia sau ambilor membri ai cuplului există cazuri de boală genetică sau condiţionată genetic. Circumstanţele de acordare a consultului genetic postmarital apar în condiţiile în care cuplul are un copil afectat de o boală genetică, cuplul este steril, istoricul reproductiv al cuplului este marcat de eşecuri (avorturi spontane sau naşterea de copii morţi) sau cuplul este neliniştit în raport cu evoluţia unei sarcini în curs de desfăşurare.

Principalele indicaţii de acordare a consultului genetic sunt:

- ***Anamneză familială pozitivă.*** Existenţa unor persoane afectate în familie este asociată cu un risc crescut de recurenţă al bolii. În cazul căsătoriilor consanguine creşte riscul cuplului de a avea un descendent afectat de o boală recesivă.
- ***Vârstă maternă avansată*** (peste 35 ani) creşte riscul cuplului de a avea un copil cu trisomie, în special cu trisomie 21 (sindrom Down).
- ***Tulburări de sexualizare sau reproducere*** (sterilitate, avorturi spontane, nou-născuţi morţi) – de multe ori aceste manifestări patologice sunt consecinţa unor anomalii cromosomice echilibrate prezente la unul dintre părinţi.
- ***Anomalii congenitale multiple*** - sunt frecvent produse de defecte genice sau cromosomice, iar riscul de recurenţă este semnificativ.
- ***Retard mintal cu sau fără tulburări de comportament.*** Majoritatea cazurilor de retard mintal moderat sau sever sunt produse de anomalii genetice (monogenice sau cromosomice) ceea ce implică un risc crescut la descendenţi.

- ***Boală monogenică*** - indivizii afectați de o astfel de boală au un risc semnificativ de a avea descendenți bolnavi, riscul depinzând de tipul bolii (recesivă sau dominantă) și de sexul persoanei afectate
- ***Boală multifactorială*** - riscul este crescut în cazul în care există rude de gradul întâi afectate;
- ***Diagnostic prenatal*** - depistarea unor semne ecografice de alarmă la examenul ecografic sau valori anormale ale triplu testului reprezintă o indicație majoră de consult genetic.

IX.4.2. ETAPELE CONSULTULUI GENETIC

Consultul genetic se desfășoară în mai multe etape, secvența lor fiind următoarea:

1. ***Înregistrarea datelor personale și a motivelor de consult*** - în cadrul acestei etape sunt analizate și documentele medicale existente;
2. ***Anamneza familială, materno- fetală, neonatală și postnatală;***
3. ***Examenul fizic*** – corelarea datelor anamnestice cu rezultatele examenului fizic permit stabilirea unor ipoteze de diagnostic;
4. ***Examenele paraclinice, inclusiv cele genetice;***
5. ***Analiza și sinteza datelor*** clinice și paraclinice pe baza cărora este stabilit diagnosticul pozitiv și cel diferențial;
6. ***Evaluarea prognosticului, a posibilităților de recuperare și a riscului genetic;***
7. ***Comunicarea verbală și scrisă a rezultatelor*** - comunicarea acestor date trebuie făcută ***individualizat***, verificând dacă persoanele care s-au adresat geneticianului au înțeles interpretarea datelor medicale și valoarea riscului de recurență; comunicarea rezultatului consultului genetic se face în scris atât pacientului, cât și medicului de familie sau medicului specialist care a trimis pacientul sau cuplul la consultație.
8. ***Urmărirea evoluției bolii la pacienții*** diagnosticați

IX.4.2.1. ANAMNEZA FAMILIALĂ

Anamneza familială se face în mod diferit dacă pacientul este copil sau dacă este adult. În cazul unui copil mic se pune accent pe anamneza materno-fetală, neonatală și postnatală, în timp ce la adulți sunt vizate dezvoltarea pubertară, anamneza reproductivă și istoricul propriu-zis al bolii.

Realizarea unei anamneze corecte implică: o bună experiență clinică, cunoștințe despre evoluția normală fetală și postnatală, abilitate de comunicare, acordarea unui timp suficient pentru a putea culege toate datele esențiale din istoricul afecțiunii.

Anamneza familială se realizează pe baza informaţiilor furnizate de pacient sau de alţi membri ai familiei, punându-se accent asupra rudelor până la gradul III. Utile sunt ***documentele medicale*** care atestă informaţiile furnizate de pacient şi ***examenul direct al membrilor familiei***. Importantă este şi ***examinarea fotografiilor de familie*** care pot să indice existenţa unor trăsături familiale sau prezenţa în familie a altor persoane afectate.

În cadrul anamnezei familiale trebuie înregistrate următoarele date:

- ***vârsta*** în momentul concepţiei;
- ***originea etnică şi religioasă***;
- ***decese în familie*** (date despre cauze, vârstă, rezultate necroptice);
- ***tulburări de reproducere***;
- ***prezenţa în familie a altor persoane afectate de aceeaşi boală sau de maladii diferite*** (aceste boli pot fi entităţi diferite, dar pot constitui manifestări variabile ale aceleiaşi gene mutante);
- ***caractere morfologice familiale***.

Pe baza anamnezei familiale este realizat arborele genealogic. **Arborele genealogic** reprezintă o prezentare schematică a persoanelor dintr-o familie şi a relaţiilor de rudenie dintre acestea, folosind o serie de simboluri convenţionale, valabile pe plan mondial şi care au fost standardizate la Conferinţele internaţionale de genetică. Simbolurile folosite pentru întocmirea arborelui genealogic sunt prezentate în figura IX.1.

În raport cu rezultatele obţinute, anamneza familială poate fi:

- ***pozitivă*** - când există şi alte cazuri de boală în familie;
- ***negativă, dar semnificativă*** (de exemplu consanguinitate parentală);
- ***fals negativă*** - date insuficiente, mutaţii noi, expresivitate variabilă;
- ***real negativă***.

Anamneza materno-fetală furnizează informaţii referitoare la stadiile evolutive ale produsului de concepţie prenatal şi postnatal.

Datele anamnestice referitoare la **concepţie** care trebuie analizate sunt:

- ***Antecedentele reproductive ale cuplului*** - metode anticoncepţionale, tratamente pentru sterilitate, evoluţia altor sarcini;
- ***Vârsta părinţilor la momentul concepţiei***, fiind cunoscut că vârsta maternă avansată (peste 35-38 ani) predispune la anomalii cromosomice numerice, iar vârsta paternă avansată (peste 50-55 ani) la mutaţii genice;
- ***Bolile cronice ale mamei*** precum: ***diabetul zaharat***[80] sau ***epilepsia***[81] pot avea efecte negative asupra dezvoltării fetale;

[80] hiperglicemia este teratogenă, fiind necesară o monitorizare continuă a diabetului în timpul sarcinii

[81] medicamentele anticonvulsivante pot fi teratogene, fiind recomandată evitarea folosirii lor sau utilizarea de preparate mai puţin nocive în primele 3 luni de sarcină

- ***Obiceiurile nocive ale mamei*** (consumul de alcool, droguri, fumatul);
- ***Grupele sanguine ABO şi Rh*** - incompatibilităţi materno- fetale.

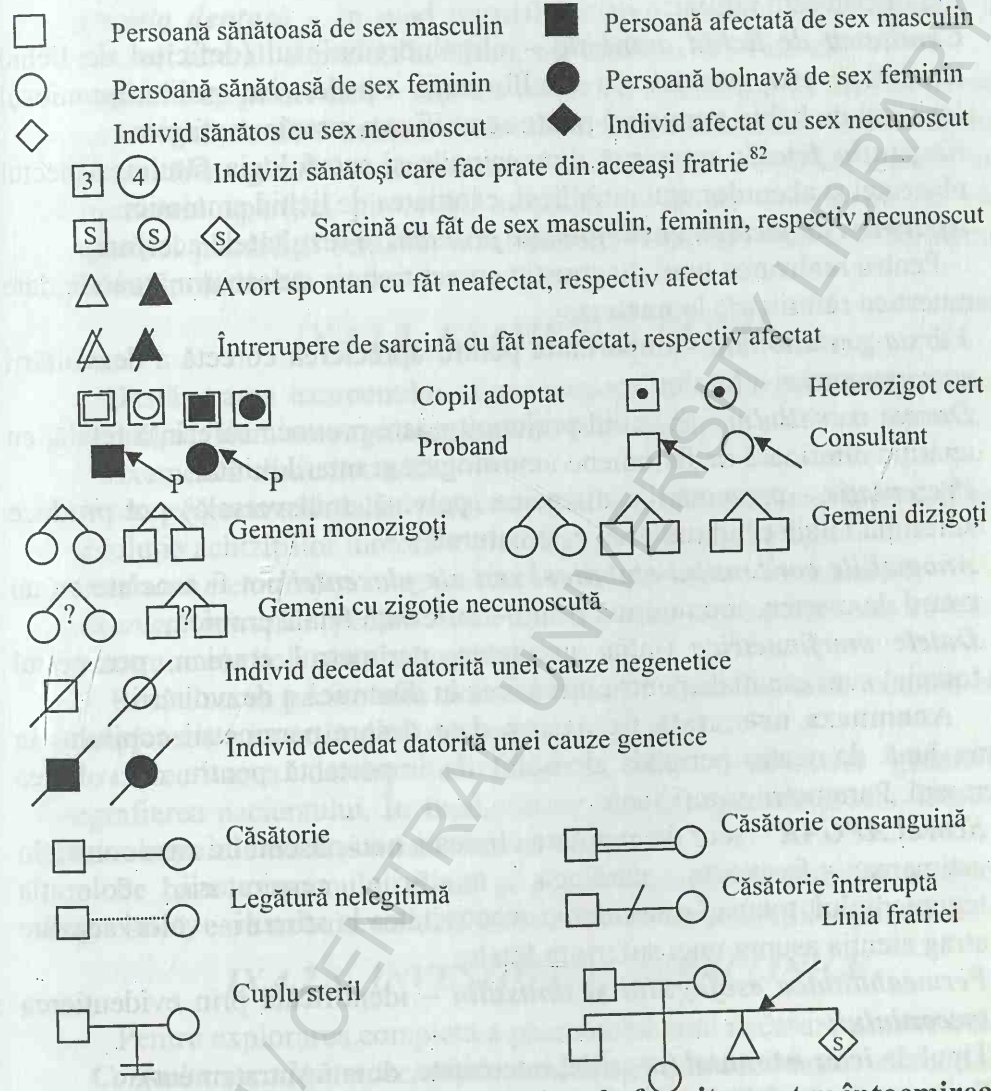


Figura IX.1. Simboluri internaţionale folosite pentru întocmirea arborelui genealogic

Principalele elemente anamnestice referitoare la evoluţia sarcinii sunt:

- ***Data ultimului ciclu menstrual***;
- ***Expunerile la teratogeni în trimestrul I de sarcină:*** *alcool*[83], *hipertermia prelungită* (poate produce anomalii congenitale);

[82] Fratrie – toţi copiii unui cuplu parental

[83] expunerea zilnică la alcool produce *sindromul alcool fetal,* caracterizat prin retard mintal, hiperactivitate, întârzierea apariţiei limbajului, microcefalie, microftalmie;

BUAS / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

- ***Primele mişcări fetale*** – apar în mod normal la 4-5 luni; mişcări diminuate apar în boli cerebrale, neuromusculare sau când spaţiul intrauterin este limitat;
- ***Cantitatea de lichid amniotic*** – oligohidramniosul (deficitul de lichid amniotic) este asociat cu malformaţii renale, iar polihidramniosul (excesul de lichid amniotic) poate semnifica o atrezie esofagiană
- ***Ecografia fetală:*** apreciază dimensiunile şi morfologia fătului, aspectul placentei şi al cordonului ombilical, cantitatea de lichid amniotic;
- ***Aplicarea de metode de diagnostic prenatal*** şi rezultatele acestora.

Pentru realizarea unui diagnostic corect trebuie culese următoarele date anamnestice referitoare la **naştere**:

- ***Vârsta gestaţională*** - importantă pentru aprecierea corectă a dezvoltării antropometrice a fătului;
- ***Durata travaliului*** - travaliul prelungit poate provoca suferinţă fetală, cu apariţia ulterioară de fenomene neurologice şi retard mintal;
- ***Prezentaţia*** - prezentaţiile distocice (pelvină, transversală) pot produce suferinţă fetală când naşterea este naturală;
- ***Anomaliile cordonului ombilical sau ale placentei*** pot fi asociate cu un retard de creştere intrauterină printr-o suferinţă fetală cronică;
- ***Datele morfometrice*** (talia, greutatea, perimetrul cranian, perimetrul toracic) sunt esenţiale pentru urmărirea în dinamică a dezvoltării.

Anamneza neonatală furnizează date despre parametrii copilului în prima lună de viaţă, perioadă deosebit de importantă pentru dezvoltarea ulterioară. Parametrii vizaţi sunt:

- ***Scorul APGAR*** – scor de evaluare clinică a nou-născutului care constă în estimarea: frecvenţa cardiacă, mişcările respiratorii, coloraţia tegumentului, tonusul muscular şi reactivitatea la stimuli – valori scăzute atrag atenţia asupra unei suferinţe fetale;
- ***Permeabilitatea esofagului şi anusului*** – identificată prin evidenţierea ***meconiului;***
- Tipul de ***icter neonatal*** (apariţie, intensitate, durată şi tratament);
- Existenţa ***convulsiilor*** poate indica hipoglicemie sau hipocalcemie;
- ***Vărsăturile şi regurgitările*** pot atrage atenţia asupra unei despicături velo-palatine sau a unei stenoze hipertrofice de pilor.

Anamneza postnatală furnizează date despre dezvoltarea individului în special în primii ani de viaţă. Principalele date anamnestice care trebuie analizate sunt:

- ***Dezvoltarea psihomotorie***, cu evidenţierea principalelor achiziţii - un copil normal ţine capul la 3 luni, stă în şezut la 6 luni, merge şi vorbeşte la un an; regresia achiziţiilor indică o boală metabolică sau neurodegenerativă;

- ***Creşterea staturală, ponderală şi a perimetrului cranian*** este apreciată comparativ cu curbele de creştere corespunzătoare populaţiei;
- ***Erupţia dentară*** – în mod normal incisivii centrali inferiori erup la 6 luni, cei laterali superiori la 8 luni, cei mediani la 9 luni etc;
- ***Dezvoltarea pubertară*** – trebuie analizată diferenţiat în funcţie de sexul pacientului; la fete trebuie evidenţiată vârsta menarhei, cea a debutului dezvoltării glandelor mamare, ritmicitatea ciclurilor menstruale, momentul apariţiei pilozităţii sexuale; la băieţi trebuie notate vârsta apariţiei pilozităţii sexuale, a schimbării tonalităţii vocei, a momentului primei poluţii etc.

IX.4.2.2. EXAMENUL CLINIC

Desfăşurarea examenului clinic impune ca pacientul să fie relaxat şi cooperant, iar iluminarea şi temperatura să fie optime.

Examenul clinic necesită:

- *evaluare generală*: talie, perimetru cranian, dimensiunea unor segmente, evoluţia achiziţiilor motorii şi psihice, evoluţia pubertăţii;
- *evaluare metodică şi completă* a tuturor aparatelor şi sistemelor;
- *examen minuţios* pentru evidenţierea unor semne minore evocatoare pentru unele boli sau sindroame;

Reevaluarea pacientului este necesară în condiţiile unui examen iniţial incomplet sau a incertitudinii diagnosticului iniţial.

Obiectivarea datelor se realizează prin: măsurători generale şi fotografierea pacientului. În final, datele sunt înregistrate precis, folosind o terminologie adecvată şi o descriere completă.

Pe baza examenului clinic şi a anamnezei este stabilită o supoziţie diagnostică, care trebuie validată de rezultatele investigaţiilor paraclinice.

IX.4.2.3. INVESTIGAŢII PARACLINICE

Pentru explorarea completă a pacientului sunt necesare următoarele:

- ***Consultarea altor specialişti*** (cardiolog, neuropsihiatru, endocrinolog, oftalmolog, psiholog etc) care pot aprecia anomaliile din domeniul lor de activitate.
- ***Realizarea de explorări imagistice***: radiografii pentru modificări osoase; ecografie pentru aspectul viscerelor; tomografie computerizată, RMN sau CT pentru aprecierea malformaţiilor cerebrale etc.
- ***Examene biochimice/hormonale*** în afecţiuni metabolice sau endocrine;
- ***Testele serologice*** sunt utile în diagnosticul unor embriopatii;
- ***Testele genetice*** citogenetice (analiză cromosomică pre- sau postnatală pe cromosomi marcaţi sau prin tehnica FISH) şi moleculare

(identificarea mutaţiei sau a proteinei anormale) confirmă etiologia genetică a bolii diagnosticate clinic şi paraclinic.

IX.4.2.4. ANALIZA ŞI SINTEZA DATELOR

Diagnosticul bolilor genetice şi al sindroamelor plurimalformative este de obicei dificil, principalele probleme de diagnostic fiind generate de vârsta mică a pacienţilor şi existenţa de boli cu expresivitate variabilă. Stabilirea unui diagnostic corect şi complet este esenţială în bolile genetice, deoarece acesta rămâne valabil întreaga viaţă. După stabilirea diagnosticului este obligatorie întocmirea unui program de urmărire a pacientului pentru depistarea precoce a complicaţiilor, adaptarea tratamentului şi acordarea sfatului genetic. În majoritatea cazurilor diagnosticul nu este o urgenţă, dar părinţii sunt nerăbdători şi de aceea este utilă stabilirea unui diagnostic preliminar, cu menţionarea anomaliilor identificate.

Pentru elaborarea diagnosticului pozitiv al unei afecţiuni genetice se efectuează următoarele operaţiuni: se rememorează şi se ordonează datele provenite din diferite surse; se stabilesc elementele prezente şi absente (certe şi probabile) sunt identificate aparatele şi sistemele afectate şi se încearcă stabilirea de chei, algoritmi şi scoruri de diagnostic, iar în final se face o documentare amplă, pe baza datelor existente în diverse tratate de genetică medicală, a celor stocate în programele de diagnostic computerizat (POSSUM, Oxford Medical Databases) sau a celor furnizate de diferite site-uri de Internet.

Când stabilirea diagnosticului specific este imposibilă, este obligatorie urmărirea evoluţiei pacientului pentru a evidenţia apariţia de noi semne relevante pentru o anumită afecţiune.

O atenţie deosebită trebuie acordată erorilor de diagnostic, determinate de o tehnică deficitară sau de cunoaşterea incompletă a datelor din domeniu.

BCU IAŞI / CENTRALA UMF IAŞI / LIBRARY

X. BOLILE CROMOSOMICE

Bolile cromosomice sunt maladii determinate de mutații genomice (anomalii numerice ale cromosomilor) sau cromosomice (anomalii ale structurii normale a cromosomilor). Deoarece aceste mutații cauzează modificări importante ale materialului genetic, ele sunt responsabile pentru apariția unor afecțiuni umane grave.

Bolile cromosomice reprezintă o importantă componentă a patologiei genetice umane, atât datorită frecvenței globale, cât mai ales datorită consecințelor fenotipice şi reproductive. Până în prezent au fost identificate peste 600 de sindroame cromosomice. Anomaliile cromosomice afectează aproximativ: **0,7%** din nou-născuți, **2%** din sarcinile femeilor cu vârsta peste 35 de ani în momentul concepției şi se regăsesc la peste **50%** din produşii avorturilor spontane din primul trimestru.

Anomaliile de număr sau structură *neechilibrate* determină un fenotip anormal, cel mai frecvent letal, astfel încât produsul de concepție afectat se elimină de obicei prin avort spontan sau nou născut mort. Datorită acestei particularități numai 1 la 250 din nou născuții vii au trisomii sau monosomii, complete sau parțiale, care produc anomalii fenotipice caracteristice unor sindroame cromosomice specifice.

Indiferent de cromosomul afectat, toate anomaliile cromosomice neechilibrate viabile prezintă o serie de **trăsături comune**:

- tulburări de creştere şi dezvoltare pre- şi postnatală;
- retard psiho-motor;
- tulburări de reproducere, manifestate prin: sterilitate şi/sau infertilitate (avorturi repetate sau naştere de copii plurimalformați morți sau vii);
- sindrom plurimalformativ specific fiecărei anomalii în parte.

Consecințele anomaliilor cromosomice neechilibrate numerice şi structurale depind de mai mulți **factori**:

- tipul anomaliei, cantitatea de material genetic activ prezent pe cromosomul implicat şi mărimea dezechilibrului genic:
  - *Poliploidiile* produc o modificare majoră a cantității de material genetic şi sunt incompatibile cu viața la specia umană;
  - *Monosomiile complete*, exceptând unele cazuri cu monosomie X, sunt letale la specia umană, conducând la avort spontan;
  - *Trisomiile complete* ale cromosomilor mari şi/sau activi genetic sunt incompatibile cu supraviețuirea; unele *trisomii complete* ale cromosomilor săraci în material genetic active (cromosomii 21, 13, 18, 8) permit menținerea sarcinii, dar copilul este plurimalformat;

BCU "CAROL I" CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

- *Monosomiile parţiale* sau *trisomiile parţiale* sunt mai puţin grave decât anomaliile complete, dar supravieţuirea depinde de cantitatea de material genetic modificată;
- tipul cromosomului afectat (autosom sau gonosom):
  - anomaliile autosomilor sunt mai grave decât cele ale gonosomilor;
- numărul de celule afectate;
  - anomaliile în mozaic sunt mai puţin severe decât cele omogene; cu cât numărul de celule normale este mai mare cu atât o anomalie în mozaic va determina un fenotip mai puţin modificat.

Bolile cromosomice produse prin anomalii neechilibrate ale autosomilor sunt numeroase, dar există numai trei anomalii *complete şi omogene* compatibile cu supravieţuirea: trisomia 21 (sindromul Down), trisomia 18 (sindromul Edwards) şi trisomia 13 (sindromul Patau). Alte trisomii autosomale (8, 9, 22) sunt rare şi permit supravieţuirea produsului de concepţie doar când anomalia este în mozaic. Anomaliile de structură neechilibrate produc trisomii sau monosomii *parţiale*. Cele mai frecvente boli de acest fel sunt: sindromul velo-cardio-facial (deleţie 22q11) sindromul Wolf-Hirschhorn (deleţie 4p) şi sindromul *cri du chat* (deleţie 5p).

Bolile cromosomice determinate prin anomalii ale cromosomilor sexuali sunt mai puţin grave decât cele generate prin anomalii autosomale şi, de regulă, se asociază cu o rată normală de supravieţuire şi o inteligenţă normală sau aproape normală. În schimb, datorită implicării cromosomilor sexuali în formarea şi funcţionarea organelor genitale, anomaliile gonosomale se asociază cu sterilitate sau cel puţin hipofertilitate. Principalele afecţiuni gonosomale sunt: sindromul Turner (*monosomie X)* sindromul Klinefelter (*trisomie XXY*) sindromul triplo X (*trisomie X*) sindromul dublu Y (*trisomie XYY*).

Incidenţa diverselor tipuri de anomalii cromosomice şi implicarea lor în patologia umană sunt prezentate în tabelele X.1. şi X.2.

Pe parcursul acestui capitol vor fi prezentate principalele boli cromosomice, precum şi implicarea anomaliilor cromosomice în tulburările de reproducere umane.

X.1.BOLI PRIN ANEUPLOIDII AUTOSOMALE COMPLETE

X.1.1. SINDROMUL DOWN

Date generale. Sindromul Down este consecinţa fenotipică a trisomiei 21. El a fost descris de John Langdon Down în 1866, iar substratul genetic al bolii a fost stabilit de Lejeune, care a asociat sindromul Down cu prezenţa în celule a trei cromosomi 21.Incidenţa bolii este estimată la 1:650 nou-născuţi vii

(1,5‰) fiind mai frecventă la copiii de sex masculin, raportul sexelor fiind de 3 băieți : 2 fete.

Tabelul X.1. Incidența anomaliilor cromosomice în diferite etape ontogenetice și stări patologice

Etapă ontogenetică/ afecțiune	Incidența anomaliilor cromosomice
1. avorturi oculte (sarcini nedetectate clinic)	Necunoscută, probabil 33-67%
2. avorturi sau moarte *in utero*	30% (global) 50% - avorturi spontane săptămânile 8-11; 5% - nou-născuți morți
3. moarte perinatală	5-7%
4. malformații congenitale structurale	4-8%
5. anomalii congenitale de cord	13%
6. sindroame plurimalformative	5,5%
7. retard mental (exceptând sindromul X fragil)	3-10% (dependent de severitatea retardului)
8. alte tulburări de dezvoltare neuropsihică	1-3%
9. sindrom X fragil	0,4%
10. criminalitate	~ 1%
11. sterilitate masculină	2%
12. azoospermie	15%
13. defecte ale diferențierii sexuale la bărbat	~25%
14. hermafroditism adevărat	25%
15. deficite ale dezvoltării pubertare la femei	27%
16. deficiență ovariană primară	65%
17. avorturi recurente	2-5%

Tabelul X.2. Incidența anomaliilor cromosomice la nou-născuți

Trisomie autosomală	13 – sindrom Patau 18 – sindrom Edward 21 – sindrom Down	0,08‰ 0,15‰ 1,2‰	Global 1,4‰
Triploidie			0,02‰
Aneuploidii gonosomale la băieți	47,XXY – sindrom Klinefelter 47,XYY – sindrom dublu Y alte	1 ‰ 1 ‰ 0,74‰	Global 2,75‰
Aneuploidii gonosomale la fete	monosomie X – sindrom Turner 47,XXX – sindrom triplo X alte	0,3‰ 1,1‰ 0,37‰	Global 1,8‰
Anomalii cromosomice structurale neechilibrate			0,7‰
Anomalii cromosomice neechilibrate (numerice și structurale)			4‰ (1/250)
Anomalii cromosomice structurale echilibrate	Translocații reciproce Translocații Robertsoniene Inversii	2,5‰ 1‰ 0,8‰	Global 4,3‰
		Total	8,3‰ (1/120)

BUCUREȘTI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Genetică. Factorii etiologici care determină trisomia 21 nu sunt cunoscuți, dar există numeroase date care incriminează: vârsta maternă avansată în momentul concepției pentru trisomiile libere[84] şi prezența la unul dintre părinți a unei translocațiii Robertsoniene echilibrate ce implică un cromosom 21, pentru trisomia 21 prin translocație.

Mecanism patogenic. Prezența suplimentară a unui cromosom 21 determină o anomalie de dozaj genic, care induce modificări patogenice în majoritatea organelor, ce explică anomaliile de creştere şi dezvoltare.

Diagnostic. Simptomatologia clinică diferă în funcție de vârsta la care este examinat pacientul. La nou-născut, trisomia 21 trebuie suspectată în prezența următoarelor semne clinice: lungime şi greutate mică, hipotonie musculară, dismorfie facială - fante palpebrale oblice în sus şi în afară (mongoloide), nas mic cu narine anteversate, protruzie lingual (datorită gurii mici) gât scurt, cu exces de piele pe ceafă, mâini scurte şi late, cu brahidactilie, clinodactilie a degetului V, pliu palmar transvers unic (pliu simian) şi malformații viscerale (atrezie duodenală, imperforație anală, defecte cardiace).

La sugar şi copilul mic fenotipul de sindrom Down este caracterizat prin: talie şi greutate sub media vârstei, hipotonie musculară, hiporeflexie nervoasă, hiperlaxitate articulară, brahicefalie, dismorfie facială, anomalii ale membrelor şi malformații viscerale. Dismorfia facială se caracterizează prin fante palpebrale mongoloide, iris pestriț (pete Brushfield) epicantus (pliu cutanat ce acoperă unghiul intern al ochiului) nas turtit, hipoplazia etajului mijlociu al feței, limbă protruzionată (figura X.1.).La nivelul membrelor se remarcă brahidactilie, clinodactilia auricularului, dermatoglife anormale (pliu simian, exces de bucle cubitale, triradius axial situat distal) spațiul interdigital I larg la picior. Malformațiile cardiace cu şunt dreapta→stânga (defecte septal atrio-ventriculare) produc cianoză (tabelul X.3.).

Nici unul din aceste semne nu este relevant luat separat, ci doar în asociere cu celelalte semne. La sugar diagnosticul clinic de sindrom Down este certificat de prezența a cel puțin şase din semnele din tabelul X.3.

La **adult** semnele clinice sunt: retard mental sever, hipostatură, obezitate, fante palpebrale mongoloide, pete Brushfield (pete de culoare maronie localizate pe iris) buze groase şi eversate, limbă plicaturată, brahicefalie, microtie, gât scurt (figura X.2.).

În sindromul Down ritmul de creştere este redus, ceea ce induce hipostatură, caracterizată prin prezența unei deviații de minimum –2 DS față de media normală a vârstei, cu talie finală de 140 – 160 cm.

---

[84] Această asociere este explicată de creşterea frecvenței nedisjuncției meiotice în ovogoniile femeilor în vârstă

Figura X.1. Fenotip de sindrom Down la copil

Tabelul X.3. Semnele cardinale pentru diagnosticul de sindrom Down în perioada neonatală şi de sugar

Semne	Frecvenţă (%)
Reflex Moro redus	85
Hipotonie musculară	80
Profil facial plat	90
Fante palpebrale oblice în sus şi în afară	80
Urechi mici, rotunde, jos situate	60
Exces de piele pe ceafă	80
Pliu simian	45
Hiperlaxitate articulară	80
Modificări morfologice pelvine la examenul radiografic	70
Hipoplazia falangei mijlocii a auricularului	60

Figura X.2. Fenotip de sindrom Down la adult

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Trisomia 21 determină un retard mental sever şi tulburări de limbaj. Coeficientul de inteligență (QI) al persoanelor afectate variază între 20 şi 85. După vârsta de 30-35 de ani există o descreştere marcată a funcțiilor cognitive, similară cu cea din boala Alzheimer. Pacienții cu sindrom Down prezintă tulburări senzoriale, în special auditive şi vizuale. Reducerea bilaterală a acuității auditive până la surditate afectează 50-75% din pacienți. Anomaliile oculare sunt împărțite în două categorii: *minore* (epicantus, fante palpebrale mongoloide sau pete Brushfield) şi *majore* (cataractă congenitală sau strabism).

Analiza citogenetică este esențială pentru diagnosticul etiologic şi poate releva unul din următoarele cariotipuri:

- **trisomie 21 liberă omogenă** (*47,XX,+21 sau 47,XY,+21*) prezentă la 92% dintre pacienți, cromosomul suplimentar fiind de origine maternă în 80% din cazuri (figura X.3.);
- **translocație Robertsoniană** neechilibrată între cromosomi omologi, de exemplu între cromosomii 21 [*46,XY,-21,rob(21q21q)*] (figura X.4.) sau neomologi, de exemplu între cromosomii 14 şi 21 [*46,XX,-14,rob(14q21q)*] (figura X.5.); acest tip de anomalie poate fi observat în 5% din cazuri;
- **mozaic cromosomic** de tip 47/46 (**47,XY,+21 /46,XY**) prezent la 3% din pacienți
- **trisomie 21 parțială** <0,1%.

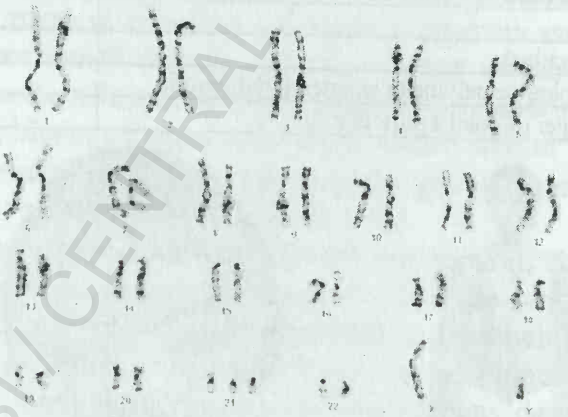


Figura X.3. Trisomie 21 liberă omogenă

Tratament. În sindromul Down nu există o terapie specifică. Tratamentul este orientat specific în direcția corecției țintite a anumitor probleme. De exemplu, corecția anomaliilor congenitale cardiace impune deseori o intervenție chirurgicală, în timp ce defectele de vorbire necesită corecție logopedică.

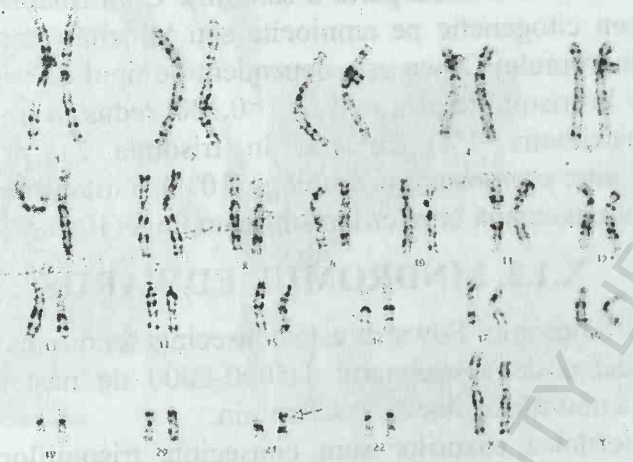


Figura X.4. Trisomie 21 prin translocație Robertsoniană între cromosomi 21

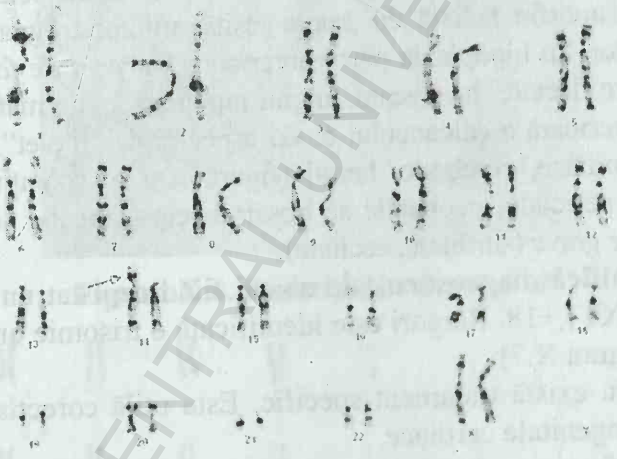


Figura X.5. Trisomie 21 prin translocație Robertsoniană între cromosomi 14 și 21

Prognosticul. În sindromul Down prognosticul vital este rezervat. Dintre pacienții cu sindrom Down 25-30% mor în primul an, 50% în primii 5 și numai 2-6% supraviețuiesc peste vârsta de 50 ani. Bărbații sunt sterili, în timp ce femeile pot fi uneori fertile, având copii normali. Cauzele de deces sunt: malformațiile cardiace, infecțiile respiratorii și leucemiile acute, mai ales cele limfoblastice.

Profilaxie. Sindromul Down poate fi depistat prenatal, folosind testul triplu (dozarea α-fetoproteinei [*valoare scăzută*], gonadotrofinei corionice umane [*valoare crescută*] și a estriolului neconjugat [*valoare scăzută*] în sângele matern) și/sau ecografia fetală (edem al cefei în primele luni de sarcină și

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

scurtarea femurului în a doua parte a sarcinii). Confirmarea diagnosticului necesită examen citogenetic pe amniocite sau vilozităţi coriale. Riscul de recurenţă al sindromului Down este dependent de tipul de trisomie 21, fiind nesemnificativ în trisomiile prin mozaic (<0,1%) redus în trisomia 21 liberă omogenă (aproximativ 1%) moderat în trisomia 21 prin translocaţie Robertsoniană între cromosomi neomologi (10%) şi total în trisomia 21 prin translocaţie Robertsoniană între cromosomi omologi (100%)[85]

X.1.2. SINDROMUL EDWARDS

Date generale. Sindromul Edwards este consecinţa fenotipică a trisomiei 18. El are o incidenţă de aproximativ 1/5000-8000 de naşteri, cu afectare preponderentă a nou-născuţilor de sex feminin.

Genetică. Majoritatea cazurilor sunt consecinţa trisomiilor 18 complete libere omogene sau în mozaic. Rareori, fenotipul poate fi consecinţa unei trisomii 18 parţiale.

Diagnostic. Fenotipul se caracterizează prin: dolicocefalie cu occiput proeminent, dismorfie facială cu frunte teşită, microretrognatism, implantare joasă a urechilor, cu hipoplazia părţii anterioare ("*urechi de faun*") stern scurt, mâini cu degete flectate, încălecate, unghii hipoplazice, dermatoglife anormale, deformare posterioară a calcaneului ce dă aspectul de „piolet". Frecvent există malformaţii cardiace, cerebrale, hernii (figura X.6.). La puţinele cazuri care supravieţuiesc perioadei neonatale se observă retard mental sever şi tulburări neurosenzoriale grave (surditate, cecitate).

Cariotipul **certifică** diagnosticul, de obicei fiind depistat un mozaic 46,XX (XY)/47,XX (XY),+18. Rareori este identificată o trisomie omogenă (47,XX (XY), +18) (figura X.7).

Tratament. Nu există tratament specific. Este utilă corecţia chirurgicală a anomaliilor congenitale cardiace.

Prognosticul. Speranţa de viaţă este foarte mică, 71% din copii murind în primele 6 luni de viaţă, iar restul în primul an. Rareori supravieţuiesc după 1 an, dar retardul mental este profund.

Profilaxie. Cuplurile care au un copil cu trisomie 18 au un risc de aproximativ 1% de a avea un alt copil afectat, de aceea este utilă aplicarea unei metode de diagnostic prenatal la viitoarele sarcini.

X.1.3. SINDROMUL PATAU

Date generale. Sindromul Patau este determinat de trisomia 13 şi are o incidenţă de 1/5000-10000 de naşteri.

---

[85] vezi capitolul **Sfatul genetic**

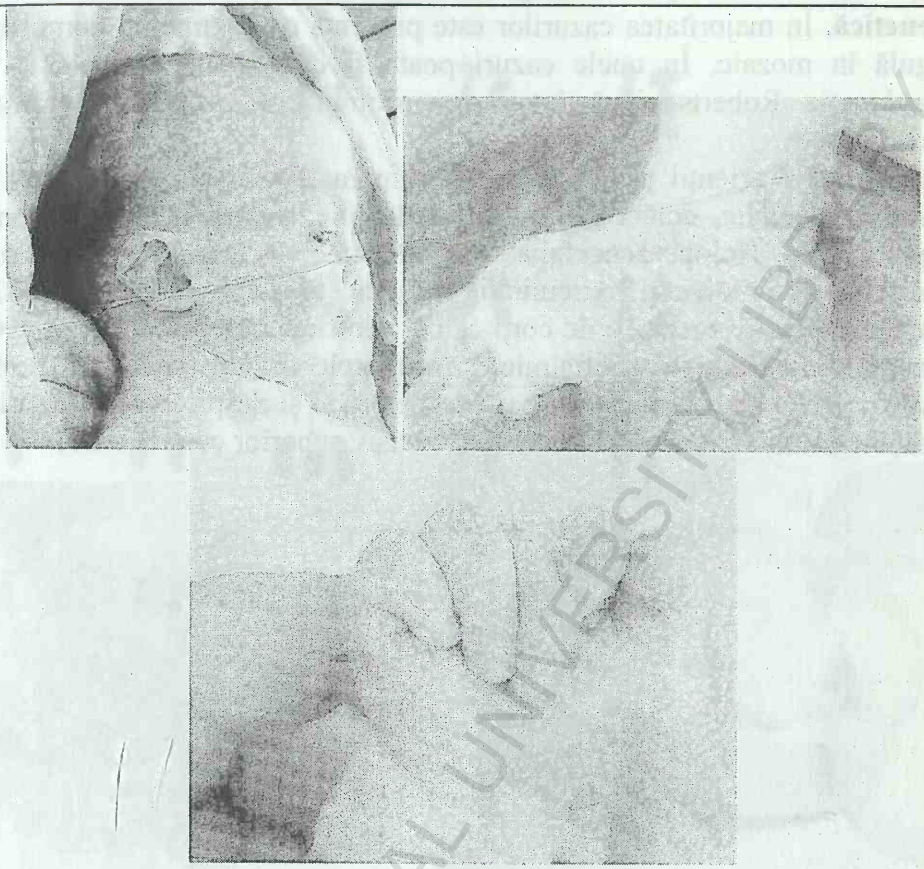


Figura X.6. Fenotip de trisomie 18

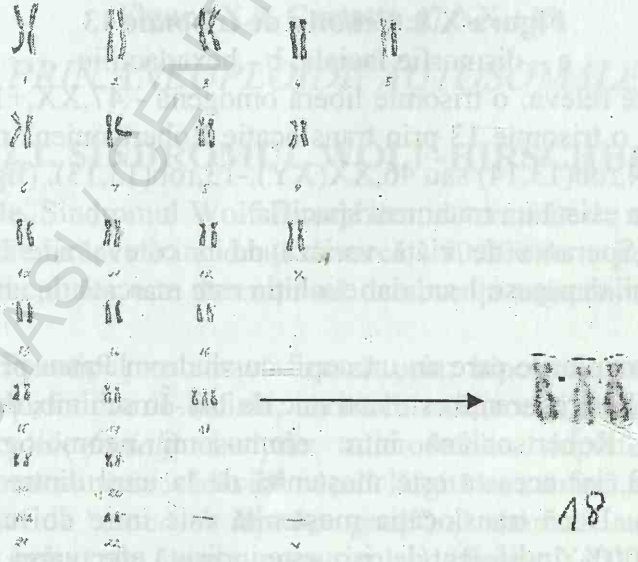


Figura X.7. Cariotip 47,XX,+18

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Genetică. În majoritatea cazurilor este prezentă o trisomie 13 completă, de regulă în mozaic. În unele cazuri poate fi decelată o trisomie 13 prin translocaţie Robertsoniană între cromosomul 13 şi un alt cromosom acrocentric.

Diagnostic. Pacienţii prezintă un sindrom malformativ caracterizată prin: holoprozencefalie, defect de scalp, polidactilie, unghii înguste şi convexe (figura X.8.). Holoprozencefalia este un defect de separare a structurilor simetrice de la nivelul extremităţii cefalice, afectând creierul (un singur emisfer cerebral, agenezie de corp calos, ventricul cerebral unic) structurile oculare (microftalmie/ anoftalmie) şi mugurele frontal (modificările pot fi severe cu ciclopie şi *proboscis* sau hipotelorism şi despicătură velo-palatină mediană sau minore cu hipotelorism şi incisiv superior central unic).

a b

Figura X.8. Fenotip de trisomie 13

a – dismorfie facială; b - hexadactilie

Cariotipul poate releva: o trisomie liberă omogenă - 47,XX,+13 sau 47,XY, +13 (75%) sau o trisomie 13 prin translocaţie Robertsonienă neechilibrată – 46,XX(XY),-14,rob(13,14) sau 46,XX(XY),-13,rob(13,13). (figura X.9.)

Tratament. Nu există un tratament specific.

Prognosticul. Speranţa de viaţă variază de la câteva zile la câteva luni. Rareori pacienţii depăşesc 1 an, dar evoluţia este marcată de un retard mental profund.

Profilaxie. La cuplurile care au un copil cu sindrom Patau prin trisomie 13 completă, riscul de recurenţă este mai mic de 1%. În schimb, dacă copilul are o translocaţie Robertsoniană între cromosomi neomologi ce implică cromosomul 13, iar aceasta este moştenită de la unul dintre părinţi, riscul este de ~ 10%. Dacă translocaţia moştenită este între doi cromosomi 13, riscul este de 100%. Indiferent de risc, este indicată efectuarea diagnosticului prenatal la viitoarele sarcini.

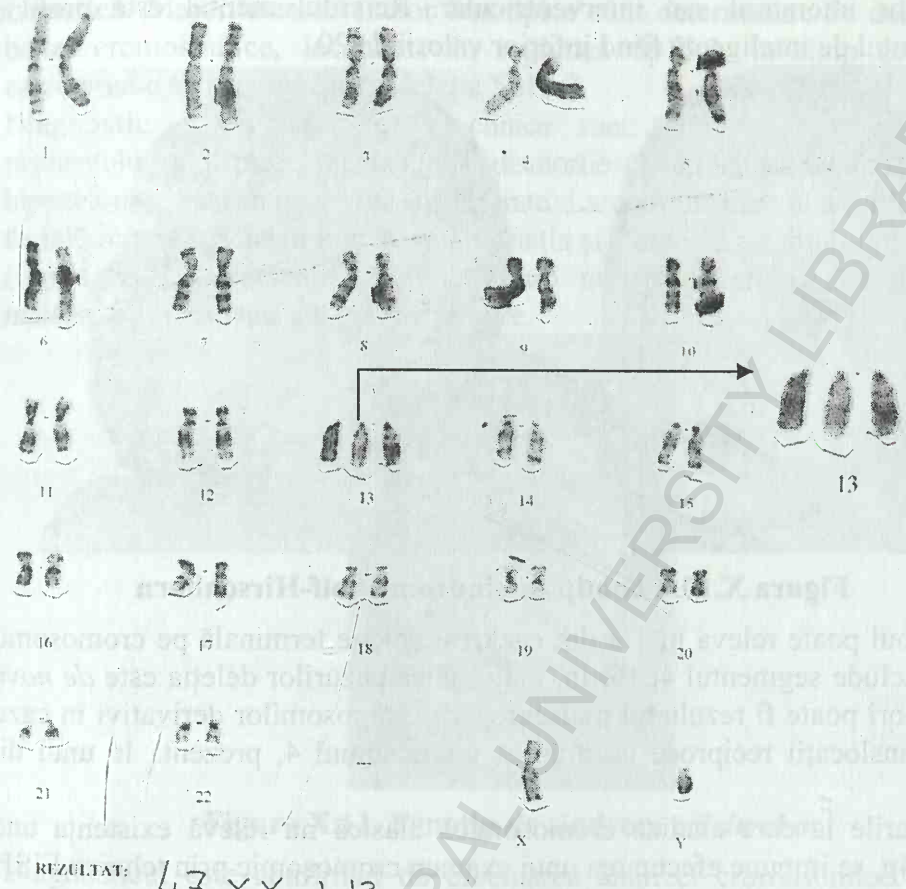


Figura X.9. Cariotip 47,XX,+13

X.2.BOLI PRIN ANEUPLOIDII AUTOSOMALE PARȚIALE

X.2.1. SINDROMUL WOLF-HIRSCHHORN

Date generale. Sindromul Wolf-Hirschhorn, determinat de **monosomia 4p-**, este o anomalie rară, cu o incidență de circa 1/50.000 de naşteri.

Genetică. Afecțiunea este determinată de absența segmentului cromosomic 4p16

Diagnostic. Fenotipul se caracterizează prin: hipotrofie staturo-ponderală marcată, dismorfie cranio-facială, anomalii cardiace şi retard mental sever. *Dismorfia cranio-facială* include: microcefalie, hipertelorism, arcade sprâncenare proeminente, rădăcină nazală lărgită ce conferă aspectul pătrat al nasului (aspect de "*cască de luptător grec*") şi anomalii auriculare (urechi jos inserate, helix plat, sinus preauricular) (figura X.10.). *Malformațiile cardiace* sunt grave, fiind reprezentate, de obicei, de defecte de închidere a

USAMV CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

septurilor interatrial sau interventricular. Retardul mental este profund, coeficentul de inteligență fiind inferior valorii de 20.

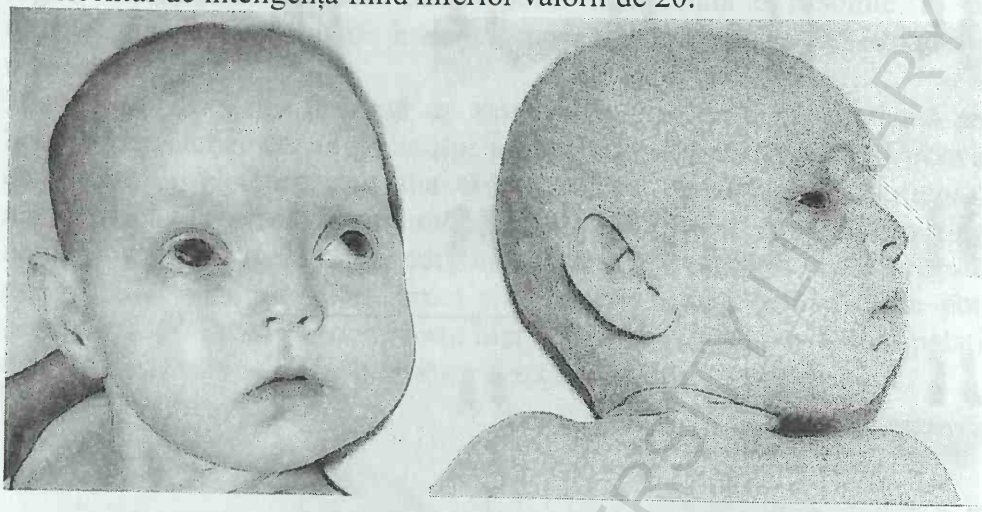


Figura X.10. Fenotip de sindrom Wolf-Hirschhorn

Cariotipul poate releva în 1/3 din cazuri o deleție terminală pe cromosomul 4, ce include segmentul 4p16. În, majoritatea cazurilor deleția este *de novo*, dar uneori poate fi rezultatul malsegregării cromosomilor derivativi în cazul unei translocații reciproce ce implică cromosomul 4, prezentă la unul din părinți.

La cazurile la care analiza cromosomică clasică nu relevă existența unei deleții 4p, se impune efectuarea unui examen cromosomic prin tehnica FISH, folosind sonde specifice locusului 4p16.

Tratament. Nu există terapie specifică

Prognosticul. Speranța de viață este limitată, 1/3 din cazuri murind în primul an de viață.

Profilaxie. Descoperirea unei deleții 4p la un copil cu sindrom Wolf-Hirschhorn, impune efectuarea analizei cromosomice la cei doi părinți, ceea ce poate releva o translocație echilibrată la unul din părinți. Dacă cei doi părinți sunt indemni, riscul de a avea un alt copil afectat este nesemnificativ. În schimb, dacă există o translocație echilibrată, riscul de recurență este de aproximativ 10%, ceea ce impune diagnostic prenatal la viitoarele sarcini.

X.2.2. SINDROMUL CRI DU CHAT

Date generale. Sindromul *"cri du chat"* este determinat de monosomia parțială 5p. Incidența bolii este 1/50000 de nașteri, dar prevalența bolii la copii cu retard mental sever este de aproximativ 1%.

Genetică. Majoritatea semnelor fenotipice sunt determinate de deleția unei benzi cromosomice, localizate în regiunea 5p15.2, în timp ce plânsul caracteristic este asociat cu o deleție 5p15.3.

Diagnostic. La sugar semnele clinice sunt: plâns caracteristic, similar mieunatului unui pisoi, microcefalie, dismorfie cranio-facială cu facies rotund, hipertelorism, epicantus, urechi jos inserate. La copilul mare şi adult dismorfia facială include faciesul îngust, micrognația şi ştergerea unghiului mandibular (figura X.11.). Pacienții prezintă retard mental sever şi, deseori, există malformații cardiace sau genito-urinare.

Figura X.11. Fenotip de sindrom *cri du chat*

Diagnosticul este confirmat de efectuarea analizei cromosomice. Aceasta indică în 85% din cazuri existența unei deleții 5p omogene *de novo* (figura 12). În restul cazurilor este depistată o deleție secundară prezenței la unul dintre părinți a unei anomalii structurale echilibrate (translocație sau inserție).

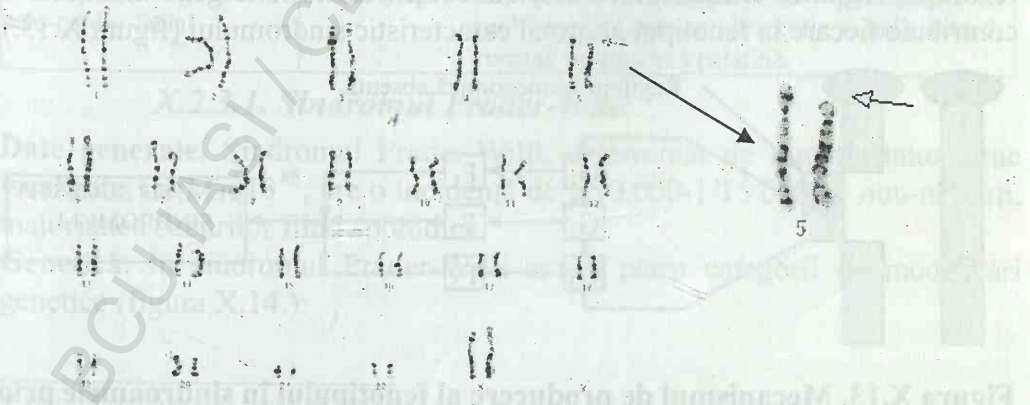


Figura X.12. Cariotip 46,XX,del(5)(p15→pter)

BCU IAŞI / CENTRALA UNIVERSITY LIBRARY

La o parte din cazuri analiza cromosomică clasică nu indică existența unei deleții, astfel încât este necesară efectuarea unui test FISH folosind sonde specifice regiunii 5p15

Tratament. Nu există terapie specifică

Prognosticul. La pacienții fără anomalii cardiace, speranța de viață nu este major modificată, bolnavii prezentând însă un retard mental sever.

Profilaxie. La părinții tuturor copiilor cu sindrom *cri du chat* este necesară efectuarea cariotipului. Dacă cei doi părinți sunt indemni, riscul de a avea un alt copil afectat este nesemnificativ. În schimb, dacă există o translocație echilibrată riscul de recurență este de aproximativ 10%., astfel încât se impune efectuarea unui diagnostic prenatal clasic sau prin tehnica FISH, folosind sonde corespunzătoare regiunii 5p15.

X.2.3. SINDROAME PRODUSE DE MICRODELEȚII SAU MICRODUPLICAȚII CROMOSOMICE

Îmbunătățirea tehnicilor de marcaj cromosomic şi aplicarea tehnicii FISH au permis depistarea de microdeleții şi microduplicații cromosomice asociate unor sindroame plurimalformative. Deoarece fragmentul cromosomic absent sau duplicat conține mai multe gene, aceste sindroame au fost denumite **sindroame ale genelor contigue**.

Diagnosticul de certitudine este stabilit prin aplicarea tehnicii FISH, dar examenul clinic, ce permite detecția unor semne caracateristice unui sindrom, rămâne esențial pentru alegerea sondei potrivite.

Sindroamele prin microdeleții sau microduplicații cromosomice prezintă următoarele caracteristici comune: sunt produse de anomalii cromosomice de mici dimensiuni, segmentul cromosomic afectat are circa 3 Mb, este posibilă uneori detecția anomaliei prin tehnici citogenetice de înaltă rezoluție, regiunea cromosomică afectată conține mai multe gene înlănțuite ce contribuie fiecare la fenotipul anormal caracteristic sindromului (figura X.13.).

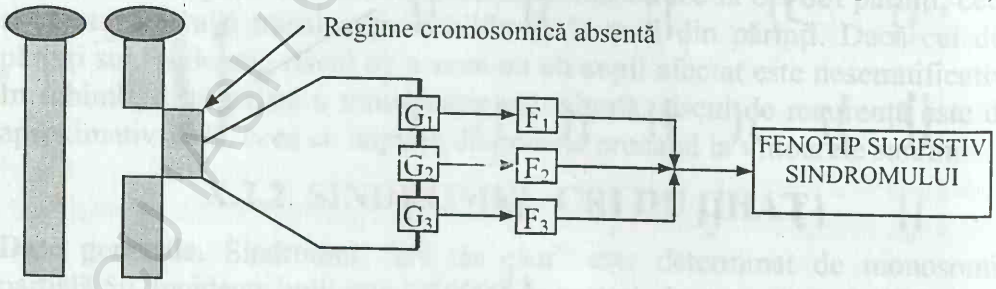


Figura X.13. Mecanismul de producere al fenotipului în sindroamele prin microdeleții cromosomice

În unele cazuri, fenotipul anormal este consecința disomiei uniparentale a unei gene cu amprentare parentală.

La nivelul regiunii cromosomice implicate în sindroamele genelor contigue a fost posibilă identificarea a trei categorii de gene: gene dominante, a căror absență determină haploinsuficiență, răspunzătoare pentru fenotipul anormal, gene recesive, a cărei absență este resimțită când alela omologă este mutantă, respectiv gene cu amprentare genetică (gametică sau parentală), fenotipul fiind secundar instalării unei nulisomii funcționale sau unei disomii funcționale a unei gene cu amprentare gametică.

Principalele sindroame cu microdelеții sunt prezentate în tabelul X.4.

Tabelul X.4. Principalele sindroame produse prin microdelеții

Sindrom	Deleție	Manifestări clinice
Sindrom Williams	del (7q11.23)	Anomalii congenitale cardiace, tulburări de comportament, facies particular
Sindrom Langer-Giedion (triho-rino-falangian)	del (8q24.1)	Multiple exostoze, aspect particular al nasului, păr subțire, anomalii falangiene.
Sindrom "WAGR"	del (11p13)	Tumoră Wilms, aniridie, displazie genito-urinară, retard mental.
Sindrom Prader-Willi	del(15q11-q13)	Hipotonie neonatală, retard mental, obezitate, dismorfie facială, acromicrie.
Sindrom Angelman	del (15q11-q13)	Retard mental, hipostatură, ataxie, crize de râs.
Sindrom Rubinstein-Taybi	del (16p13.3)	Retard mental, hipostatură, police și haluce late.
Sindrom Smith-Magenis	del (17p11.2)	Retard mental, dismorfie, hiperactivitate, automutilare.
Sindrom Miller-Dieker	del (17p13.3)	Lisencefalie, retard mental, dismorfie facială.
Sindrom Alagille	del (20p11-p12)	Colestază cronică, dismorfie facială, anomalii vertebrale.
sindrom DiGeorge și velo-cardio-facial	del (22q11.2)	Hipoplazia timusului și paratiroidelor, malformații cardiace, dismorfie facială, retard mental, despicătură palatină.

X.2.3.1. Sindromul Prader-Willi

Date generale. Sindromul Prader-Willi, determinat de mutația unor gene localizate 15q11-q13[86], are o incidență de 1/10.000-1/15.000 de nou-născuți, majoritatea cazurilor fiind sporadice.

Genetică. În sindromul Prader-Willi există patru categorii de modificări genetice (figura X.14.):

[86] În regiunea 15q11-q13 există două regiuni amprentate: una matern implicată în patogenia sindromului Angelman și una patern implicată în patogenia sindromului Prader-Willi, ambele controlate de un singur centru de amprentare

- deleţie 15q11-q13 *de novo* - prezente în 75% din cazuri (întotdeauna de origine paternă), fiind caracterizate prin absenţa unui segment cromosomic de aproximativ 3-4 Mb;
- disomia uniparentală maternă a cromosomului 15 prezentă în 20% din cazuri, fiind consecinţa "salvării" a unei trisomii 15, anomalie corelată cu vârsta maternă înaintată;
- deleţia interstiţială 15q11-q13 moştenită pe linie paternă în cazul malsegregării meiotice a cromosomilor derivativi în inserţii echilibrate, prezentă în 2-4% din cazuri;
- mutaţia centrului de amprentare, care controlează modificările epigenetice ale genelor amprentate din regiunea 15q11-q13, a fost identificată în 1% din cazuri.

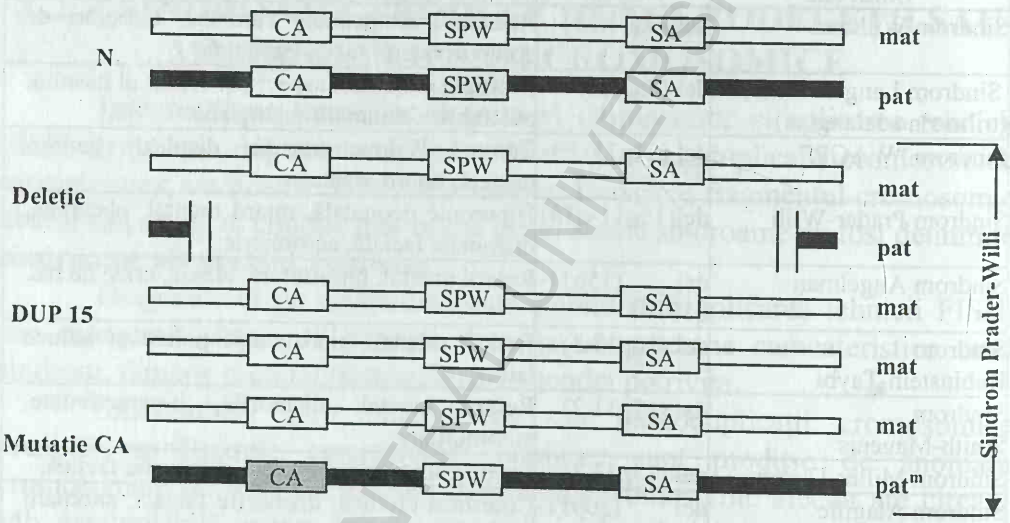


Figura X.14. Modificări genetice în sindromul Prader-Willi

CA – centru de amprentare; SPW – regiune critică sindrom Prader-Willi; SA - regiune critică sindrom Angelman; N – situaţie normală; mat – cromosom de origine maternă; pat – cromosom de origine paternă; pat^m – cromosom patern care menţine o amprentare de tip matern; DUP 15 – disomie uniparentală a cromosomului 15; SPW/SA regiune cu amprentare genetică; CA mutaţia centrului de amprentare

Mecanism patogenic. Analiza moleculară a regiunii 15q11-q13 a relevat prezenţa a 3 categorii de gene: cu amprentare paternă, cu amprentare maternă şi lipsite de amprentare. Principala genă implicată în patogenia sindromului Prader-Willi este gena SNRPN. Aceasta prezintă amprentare paternă, este exprimată exclusiv la nivelul sistemului nervos central şi asigură sinteza unei ribonucleoproteine implicată în matisarea ARNm. Alte gene cu amprentare paternă, dar al căror rol este încă necunoscut sunt: NDN, PAR1, PAR5, PAR7 si IPW. Centrul de amprentare este localizat în amonte de gena SNRPN si

controlează mecanismul de schimbare a amprentării parentale în gametogeneză.

Diagnostic. Diagnosticul clinic al sindromului Prader-Willi se bazează pe asocierea următoarelor semne clinice mai frecvente: hipotonie neonatală, probleme de alimentare în perioada de nou-născut şi sugar, hipostatură, retard mental, dismorfie cranio-facială caracteristică, obezitate după vârsta de 2-3 ani, hipogonadism hipogonadotrop şi tulburari de comportament (figura X.15.).

Figura X.15. Fenotip de sindrom Prader-Willi

Datorită multitudinii de semne clinice, caracteristice sindromului Prader-Willi, a fost necesară sistematizarea acestora sub forma unui algoritm de diagnostic clinic (tabelul X.5.). Conform acestui algoritm, copiii sub 3 ani care au cel puțin 5 puncte (fiind prezente 3 criterii majore) şi cei peste 5 ani care au cel puțin 8 puncte (fiind prezente 4 criterii majore) prezintă sindrom Prader Willi.

Diagnosticul paraclinic al sindromului Prader-Willi necesită aplicarea mai multor metode. Testele de metilare permit identificarea defectelor de amprentare ale regiunii 15q11-q13. Depistarea microdeleției 15q11-q13 este posibilă folosind sonde FISH pentru locusul SNRPN, în timp ce analiza citogenetică de înaltă rezoluție poate furniza rezultate exacte doar în deleţiile

mari (figura X.16.). Evidenţierea disomiilor uniparentale 15 se face prin analiza ADN-ului microsatelit.

Tabelul X.5. Algoritm de diagnostic clinic în sindromul Prader-Willi

Criterii majore – 1 punct fiecare	
hipotonie neonatală centrală; probleme de alimentaţie la sugari; dismorfie cranio-facială;	hipogonadism cu debut prenatal; creştere accentuată a greutăţii în copilărie;
Criterii minore – 1/2 punct fiecare	
mişcări fetale încetinite; letargie neonatală; tulburări de somn/ apnee; hipostatură; acromicrie; tendinţa la "ciupirea" pielii;	hipopigmentare; mâini înguste cu margine ulnară ascuţită; miopie/ strabism convergent; vâscozitate crescută a salivei; disartrie;
Criterii de suspiciune – 0 puncte fiecare	
prag crescut al sensibilităţii dureroase; tulburări de termoreglare	scolioză/ cifoză; adrenarhă precoce; osteoporoză

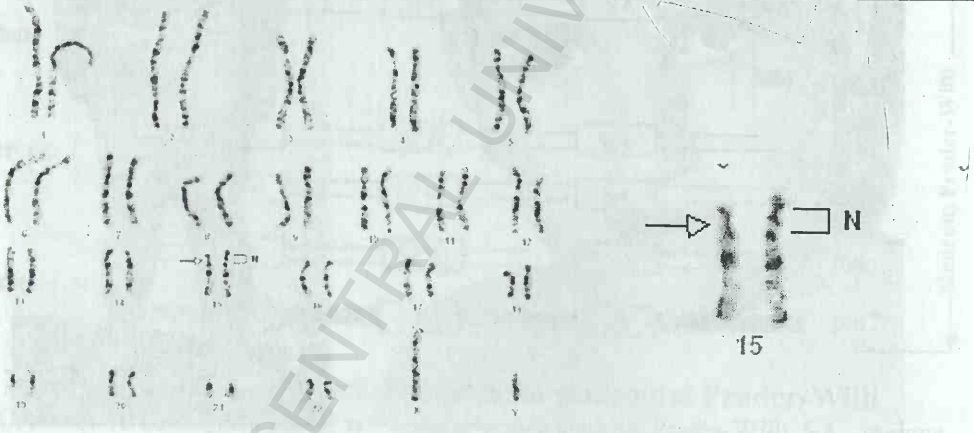


Figura X.16. Cariotip 46,XY,del(15)(q11-q13)

Tratament. Tratamentul este diferenţiat în diverse etape ale vieţii. În perioada neonatală trebuie asigurat necesarul alimentar prin tehnici speciale de alăptare sau gavaj, astfel încât să nu survină un retard de creştere secundar dificultăţilor de alimentaţie asociate hipotoniei musculare extreme. În perioada copilăriei, este utilă administrarea de hormon de creştere, care are două efecte benefice: combate hipostatura caracteristică bolii şi stimulează anabolismul ce limitează efectele negative ale hiperfagiei. În peioada de adult este util controlul obezităţii prin stimularea exerciţiilor fizice şi administrarea de inhibitori ai serotoninei pentru a ameliora anomaliile de comportament.

Prognosticul. Speranța de viață este normală, dar în perioada adultă pot exista numeroase complicații induse de obezitate. Unii pacienți prezintă retard mental, dar prin stimulare adecvată în copilărie poate fi limitată severitatea acestuia. Prognosticul reproductiv poate fi marcat de existența hipogonadismului.

Profilaxie. Diagnosticul prenatal al afecțiunii este obligatoriu în cazurile familiale, fiind bazat pe analiza cromosomică a amniocitelor sau celulelor vilozitare şi pe teste moleculare, care permit identificarea originii parentale a cromosomilor 15. Riscul de recurență al bolii este diferit în raport cu tipul anomaliei. În disomiile uniparentale şi deleţiile *de novo*, părinții unui copil bolnav au un risc nesemnificativ. În deleţiile moştenite riscul de recurență este de aproximativ 12%. În schimb, dacă există o mutație la nivelul centrului de amprentare, riscul este de 50%, deoarece aceste mutații au transmitere dominant autosomală. Pacienții cu sindrom Prader-Willi au rareori descendenți, dar riscul de a avea un copil bolnav cu sindrom Prader-Willi (dacă pacientul este bărbat) sau sindrom Angelman (dacă pacientul este femeie) este de 50%.

X.2.3.2. Sindromul Angelman

Date generale. Sindromul Angelman este o afecțiune determinată de mutația sau absența unei gene materne, localizată la nivelul regiunii 15q11-q13, genă supusă amprentării genetice. Boala afectează 1/12.000-1/20.000 de nou-născuți.

Genetică. În sindromul Angelman au fost identificate mai multe categorii de modificări genetice (figura X.17.):

- microdeleția de origine maternă a regiunii 15q11-q13 este prezentă în 70-75% dintre cazuri şi poate fi *de novo* sau consecința malsegregării unor cromosomi derivativi în anomalii cromosomice structurale echilibrate materne.
- disomia uniparentală paternă a cromosomului 15, este prezentă în 2-5% dintre cazuri, fiind, de obicei, asociată cu un fenotip mai puțin modificat.
- mutația sau microdeleția centrului de amprentare a regiunii 15q11-q13,
- mutații dominante inactivatoare a genei UBE3A, depistate în 20-25% din cazurile fără anomalii cromosomice şi au o transmitere în conexiune cu amprentarea maternă a genei UBE3A

Mecanism patogenic. Mutația genei pentru ubiquitin-protein ligaza E6-AP (UBE3A) sau absența alelei materne a genei este răspunzătoare pentru apariția sindromului Angelman. Gena UBE3A prezintă amprentare maternă, se exprimă exclusiv la nivelul sistemului nervos central şi asigură sinteza unei ligaze ce intervine în degradarea dependentă de ubiquitină a unor proteine

cerebrale. Degradarea încetinită sau absentă a acestor proteine determină retardul mental caracteristic afecțiunii.

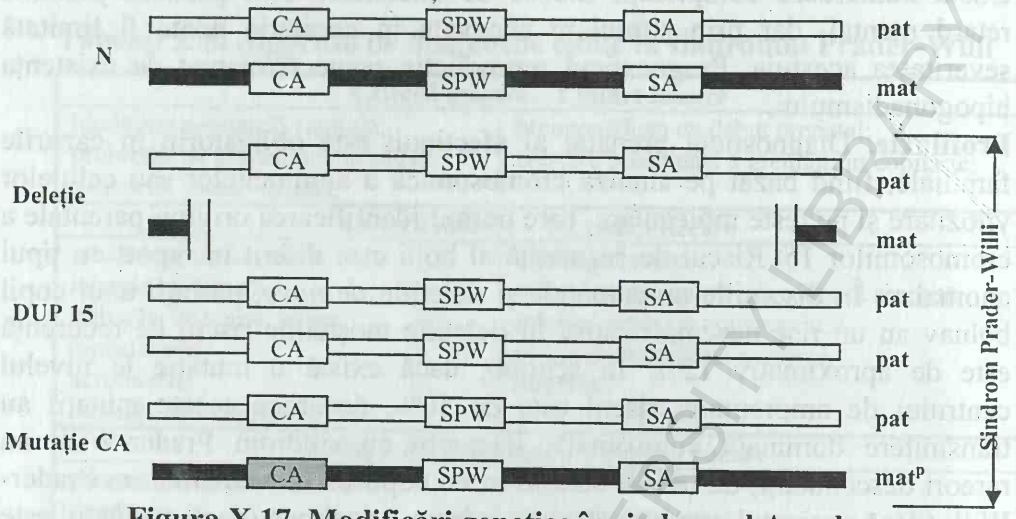


Figura X.17. Modificări genetice în sindromul Angelman

CA – centru de amprentare; SPW – regiune critică sindrom Prader-Willi; SA - regiune critică sindrom Angelman; N – situație normală; mat – cromosom de origine maternă; pat – cromosom de origine paternă; mat^p – cromosom matern care menține o amprentare de tip patern; DUP 15 – disomie uniparentală a cromosomului 15, SPW/SA regiune cu amprentare genetică; CA mutația centrului de amprentare

Diagnostic. Caracteristicile clinice principale ale sindromului Angelman sunt: retardul mental sever, microcefalia cu instalare progresivă, mersul şi mişcările ataxice, absența vorbirii, crizele comițiale şi episoadele de râs nemotivat. În general, diagnosticul clinic este stabilit între 3 şi 7 ani, deoarece la copiii mici nu există semne clinice particulare. În tabelul X.6. este prezentat un algoritm de diagnostic clinic al sindromului Angelman.

Tabelul X.6. Algoritm de diagnostic clinic în sindromul Prader-Willi

Semne de certitudine (100%)	
♦ retard sever al dezvoltării mentale; ♦ aptitudini de comunicare nonverbală superioare celor verbale ♦ tulburări de deplasare/ echilibru; mers ataxic şi tremurături ale membrelor;	♦ absența vorbirii; ♦ tulburări de comportament: accese de râs nemotivat, aspect aparent fericit, personalitate uşor excitabilă, deficit al atenției;
Semne frecvente (>80%)	
♦ microcefalie evidentă după vârsta de 2 ani ♦ crize comițiale cu debut înainte de 3 ani;	♦ anomalii EEG – amplitudine crescută a undelor lente

Diagnosticul paraclinic al sindromului Angelman poate fi efectuat prin mai multe metode. Testele de metilare permit identificarea statusului amprentării regiunii 15q11-q13, în timp ce evidențierea disomiilor uniparentale 15 este

posibilă prin analiza ADN-ului microsatelit. Depistarea microdeleției 15q11-q13 este efectuată, folosind o sondă FISH pentru locusul UBE3A, iar analiza citogenetică de înaltă rezoluție rămâne utilă în puținele cazuri de translocații sau inversii familiale.

Tratament. Tratamentul vizează corecția deficitelor neurologice, a crizelor comițiale şi a defectului de vorbire. Deficitele neurologice impun metode fizice şi ocupaționale, deoarece medicația neuromodulatoare nu are efecte benefice. Crizele comițiale trebuie corectate prin administrare de antiepileptice, iar defectul de vorbire impune corecție logopedică axată pe comunicarea nonverbală.

Prognosticul. Speranța de viață este normală, dar retardul mental poate varia de la uşor la sever. Reproducerea este posibilă, existând riscul ca descendenții să aibă fie sindrom Angelman, fie sindrom Prader-Willi dependent de sexul pacientului.

Profilaxie. Riscul de recurență al sindromului Angelman este diferit în funcție de tipul modificării genetice. În microdelețiile de novo 15q11-q13 şi în disomiile uniparentale 15 paterne riscul este nesemnificativ, fiind mai mic de 1%. În cazurile cu microdeleție, secundară unei malsegregări meiotice a unui cromosom derivativ, riscul este de aproximativ 10-12%. În sfârşit, în prezența unei mutații a centrului de amprentare sau a genei UBE3A, riscul este de aproximativ 50%, deoarece aceste mutații au transmitere dominant autosomală. Diagnosticul prenatal este posibil, dar aplicarea metodelor moleculare este limitată doar la laboratoarele foarte moderne.

X.3.BOLI PRIN ANEUPLOIDII GONOSOMALE

X.3.1. SINDROMUL TURNER

Date generale. Sindromul Turner este o boală cromosomică determinată de **monosomia** completă sau parțială a **cromosomului X**. Sindromul Turner este una din cele mai frecvente boli cromosomice, afectând aproximativ 1/5.000 de nou-născuți, adică circa 1/2.500 de fete.

Genetică. Sindromul Turner este o boală cromosomică determinată de absența completă sau parțială a unui gonosom, în condițiile în care cel de-al doilea gonosom este cromosomul X. În cazul monosomiilor X complete, 50-70% au origine paternă, fiind consecința unei erori în meioza tatălui (nedisjuncție cromosomică, nedisjuncție cromatidiană, întârziere anafazică), care duce la formarea de gameți lipsiți de gonosom.

Mecanism patogenic. Particularitățile clinice sunt determinate de absența unor gene prezente pe cromosomul X. Astfel, lipsa unor gene din regiunea proximală a brațului scurt al cromosomului X se asociază cu insuficiență

ovariană, în timp ce deleţiile terminale ale braţului scurt generează amenoree secundară, hipostatură şi anomalii congenitale. Pe de altă parte absenţa genelor de pe braţul lung al cromosomului X determină modificări mult mai importante ale funcţiei reproductive, caracterizate prin absenţa telarhei, amenoree primară şi hipogonadism.

Diagnostic. Semne clinice evidente la naştere sunt: copil de sex feminin cu lungime mai mică decât normal, limfedem (acumulare subcutanată de limfă) dur nedureros şi tranzitoriu la nivelul mâinilor şi picioarelor, gât scurt, cu exces de piele pe ceafă şi/sau *pterygium coli* (pliu cutanat pe feţele laterale ale gâtului) şi distanţă intermamelonară mare.

Diagnosticul clinic în perioada copilăriei se bazează pe identificarea unui **deficit major de creştere**, înălţimea copilului fiind mult mai mică decât valoarea medie corespunzătoare vârstei biologice.

După pubertate diagnosticul clinic de sindrom Turner este sugerat de următoarele semne clinice: hipostatură (înălţime mai mică de 145 cm) semne de disgenezie ovariană - amenoree primară, sterilitate primară şi definitivă (ovarele nu produc ovule), glande mamare puţin dezvoltate, pilozitate axilară absentă, pilozitate pubiană redusă, organe genitale externe cu aspect infantil – dismorfie cranio-facială necaracteristică (aspect matur al feţei, facies triunghiular, epicantus, fante palpebrale antimongoloide, boltă palatină ogivală), linia joasă de inserţie a părului pe ceafă, terminată în *trident,* diametrul biacromial mai mare decât cel bitrohanterian (umeri mai laţi decât şoldurile), *cubitus valgus* (deformare spre exterior a antebraţului în raport cu braţul), unghii convexe hipoplazice, numeroşi nevi pigmentari, uneori malformaţii congenitale viscerale cardiace sau renale (figura X.18.).

Confirmarea diagnosticului clinic implică *investigaţii citogenetice* şi *dozări hormonale.* Investigaţiile citogenetice necesare sunt: **testul cromatinei sexuale X şi analiza cromosomică.**

Testul cromatinei sexuale X poate fi utilizat ca metodă de screening fiindcă metoda este ieftină, rapidă şi facil de aplicat. Testul este sugestiv pentru diagnostic când cromatina X este **negativă** sau **procentul** de celule cu cromatină pozitivă este **redus** (5-10%).

Examenul cromosomic este esenţial pentru stabilirea diagnosticului de certitudine. Cariotipul poate releva: **monosomie X completă** – *45,X* (65% din cazuri) (figura VI.7.) **monosomie X în mozaic** – *45,X/46,XX sau 45,X/46,XX/47,XXX* (12% din cazuri) **monosomie X parţială prin deleţie pe cromosomul X** – *46,X,del(X)* (6% din cazuri) (figura X.19.) **monosomie X parţială prin isocromosom X** – *46,X,i(X)* (11% din cazuri) (figura VI.24) **monosomie X parţială prin cromosom inelar** – *46,X,r(X)* (6% din cazuri) (figura X.20.).

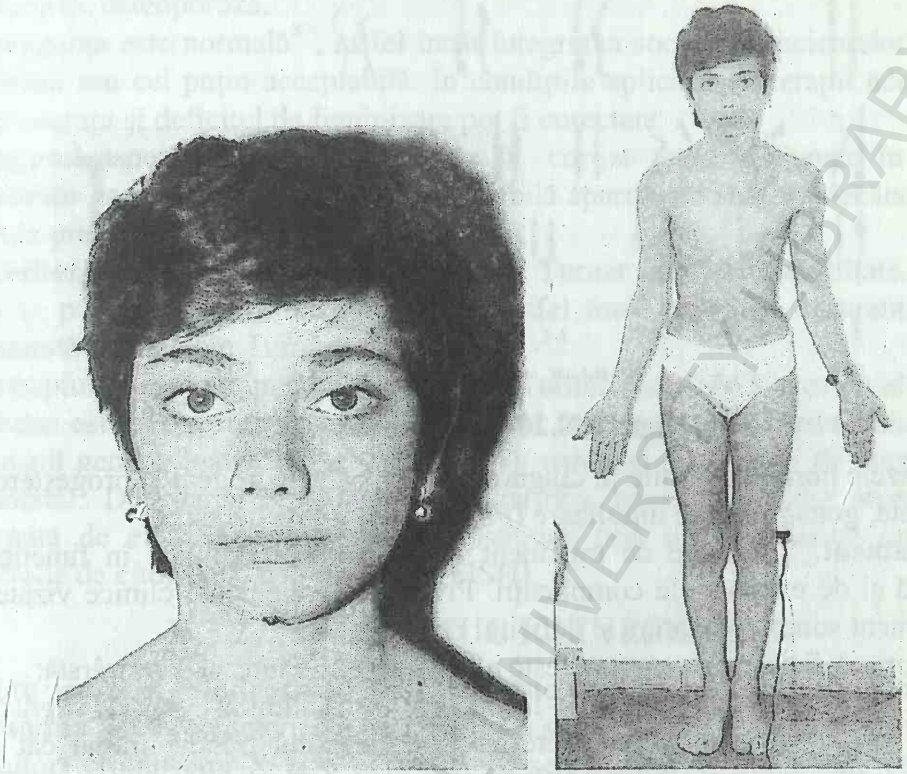


Figura X.18.Fenotip de sindrom Turner

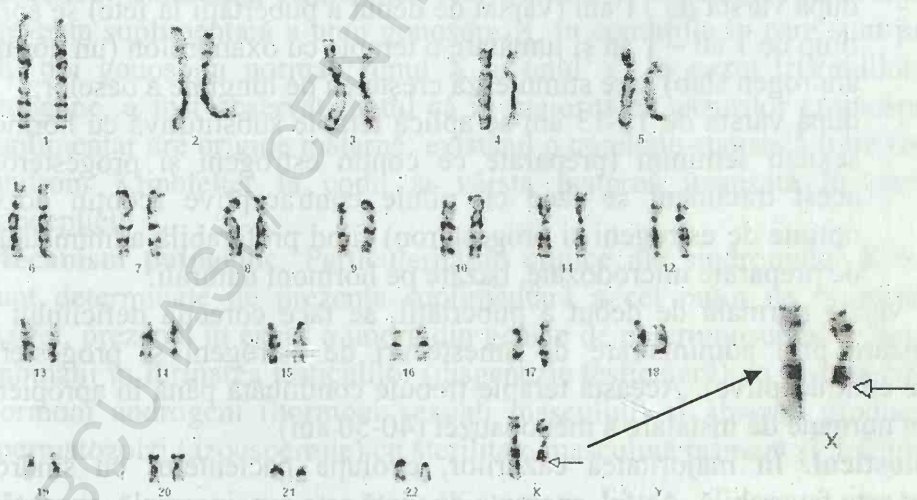


Figura X.19. Cariotip 46,X,del(Xq)

BCU "Iași" CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

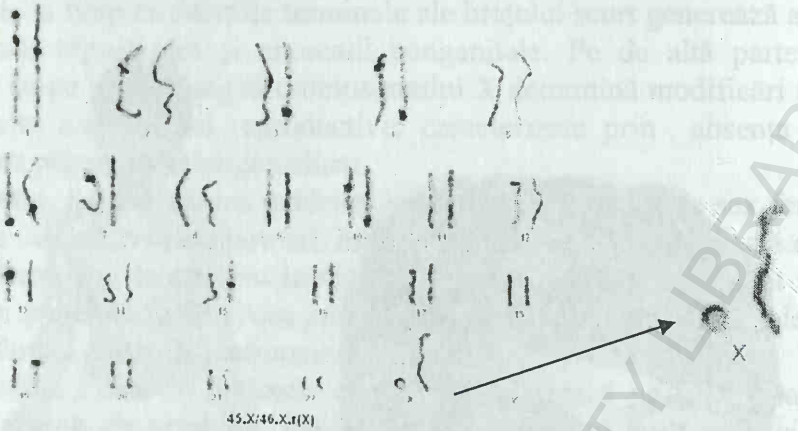


Figura X.20. Cariotip 46,X,r(X)

Analizele hormonale utile în diagnosticul ST sunt: estrogeni şi progesteron – scăzute, gonadotrofine hipofizare (FSH şi LH) - nivel crescut.

Tratament. Schemele de tratement în ST sunt diferenţiate în funcţie de vârstă şi de eventualele complicaţii. Principalele elemente clinice vizate de tratament sunt: hipostatura şi deficitul de feminizare.

Corecţia deficitului de creştere este efectuată în trei intervale de vârstă:

- în timpul copilăriei (2-10 ani) este utilă administrarea de supradoze de GH (hormon de creştere); tratamentul trebuie iniţiat cât mai devreme posibil şi să fie continuu; terapia cu GH nu mai este utilă după 10 ani când receptorii pentru hormon nu mai răspund la supradoze;
- după vârsta de 11 ani (vârsta de debut a pubertăţii la fete) se aplică timp de 1 an – 1 an şi jumătate o terapie cu oxandrolon (un hormon androgen slab) care stimulează creşterea pe lungime a oaselor;
- după vârsta de 12-13 ani se aplică terapie substitutivă cu hormoni sexuali feminini (preparate ce conţin estrogeni şi progesteron); acest tratament se face cu pilule contraceptive (conţin dozele optime de estrogeni şi progesteron) fiind preferabilă administrarea de preparate microdozate, bazate pe hormoni naturali.

După vârsta normală de debut a pubertăţii, se face corecţia deficitului de feminizare prin administrare de amestecuri de estrogeni şi progesteron (pilule contraceptive). Această terapie trebuie continuată până în apropierea vârstei normale de instalare a menopauzei (40-50 ani).

Prognosticul. În majoritatea cazurilor, evoluţia pacientelor cu sindrom Turner este favorabilă. Astfel, speranţa de viaţă este cvasinormală, exceptând situaţiile în care există anomalii congenitale viscerale cardiace sau renale. În perioada adultă pacientele cu sindrom Turner pot dezvolta hipertensiune

arterială, obezitate, diabet zaharat, tiroidite Hashimoto (autoimune), cataractă, osteoporoză.

Inteligența este normală[87], astfel încât integrarea socială a pacientelor poate fi bună sau cel puțin acceptabilă. În condițiile aplicării de terapii adecvate, hipostatura și deficitul de feminizare pot fi corectate.

Singurul aspect clinic care nu poate fi corijat este sterilitatea, în cazul femeilor cu sindrom Turner fiind imposibilă apariția de sarcini plecând de la ovule proprii.

Profilaxie. În condițiile în care sindromul Turner determină sterilitate, boala nu se poate transmite la descendenți, astfel încât riscul de recurență la o pacientă cu sindrom Turner este zero.

La cuplurile care au un copil cu sindrom Turner, riscul de a avea un alt copil afectat este de obicei nesemnificativ (mai mic de 1%) dar este indicat un consult genetic înainte de o nouă sarcină, existând posibilități de diagnostic prenatal. Depistarea bolii înainte de naștere necesită puncție amniotică, urmată de efectuarea analizei cromosomice prin tehnici clasice sau prin metode de citogenetică moleculară (FISH).

X.3.2. SINDROMUL KLINEFELTER

Date generale. Sindromul Klinefelter este o boală genetică determinată de **trisomia XXY**, caracterizată prin prezența suplimentară a unuia (mai rar mai multor) cromosomi X la o persoană de sex masculin. Boala este cea mai frecventă anomalie gonosomală la sexul masculin, afectând aproximativ 1/1000 din nou-născuții de sex masculin.

Genetică. Sindromul Klinefelter este o boală cromosomică determinată de prezența suplimentară a unui gonosom X, în condițiile în care sunt prezenți alți doi gonosomi normali: unul X și unul Y. În cazul trisomiilor XXY omogene, a fost observat faptul că în majoritatea cazurilor cromosomul X suplimentar are origine maternă, existând o corelație statistică între riscul de sindrom Klinefelter la copil și vârsta maternă avansată în momentul concepției.

Mecanism patogenic. Particularitățile clinice ale sindromului Klinefelter sunt determinate de prezența suplimentară a cel puțin un cromosom X. Astfel, prezența în exces a unora din genele de pe cromosomul X determină anomalii în formarea testiculilor (disgenezie testiculară) cu lipsa secreției de hormoni androgeni (hormoni sexuali masculini) și absența producerii de spermatozoizi (azoospermie) cu sterilitate masculină primară și definitivă.

[87] inteligența este normală sau la limita inferioară a normalului, cu o scădere a percepției spațiale și a capacității de abstractizare

Diagnostic. Deoarece boala nu are semne clinice particulare în timpul copilăriei, ea este diagnosticată de obicei postpubertar datorită întârzierii dezvoltării caracterelor sexuale secundare masculine.

Principalele semne clinice evidente postpubertar sunt: statura înaltă, asocierea între microorhidie şi penis normal (disociaţie peno-orhitică), sterilitate masculină şi inadaptabilitate socială.

Majoritatea pacienţilor cu trisomie XXY prezintă o sexualizare masculină deficitară, determinată de disgenezia gonadică. Astfel, *caracterele sexuale secundare sunt slab dezvoltate*: pilozitate facială, axilară şi tronculară absente sau slab reprezentate, pilozitate pubiană redusă cu aspect ginoid, corp cu conformaţie de tip feminină (şolduri mai late decât umerii), voce înaltă, adipozitate cu dispoziţie ginoidă. De asemenea, disgenezia testiculară induce azoospermie şi sterilitate primară şi definitivă. O altă particularitate fenotipică este prezenţa ginecomastiei (dezvoltarea glandelor mamare la un individ de sex masculin) (figura X.21.).

Figura X.21. Fenotip de sindrom Klinefelter

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Dezvoltarea intelectuală este aproape normală, dar pacienții cu sindrom Klinefelter prezintă tulburări de învățare, determinate de dislexie. În schimb, la pacienții cu polisomii XY, prezența unui număr crescut de cromosomi X se asociază cu retard intelectual. Personalitatea pacienților cu SK este caracterizată prin sfioşenie, pasivitate, imaturitate şi dependența de aparținători.

Confirmarea diagnosticului este realizată pe baza **analizelor citogenetice şi a testărilor hormonale**.

Investigațiile citogenetice necesare sunt: **testul cromatinei sexuale** şi **analiza cromosomică.** *Testul cromatinei sexuale X* poate fi utilizat ca metodă de screening în sindromul Klinefelter, în condițiile în care metoda este ieftină, rapidă şi facil de aplicat. Această metodă este sugestivă pentru diagnosticul de sindrom Klinefelter când valorile sunt pozitive (prezența corpusculului Barr – echivalentul unui cromosom X inactivat genetic). În cazul polisomiilor XY pot fi identificați 2 sau chiar 3 corpusculi Barr.

Examenul cromosomic este esențial pentru stabilirea diagnosticului de certitudine. Principalele anomalii identificate sunt: **trisomie XXY omogenă** – *47,XXY* (75% din cazuri) (figura X.22.) **trisomie XXY în mozaic** – *46,XY/47,XXY* (~20% din cazuri) **mozaicuri complexe** de tipul *46,XY/47,XXY/48,XXXY* sau *47,XXY/48,XXXY*, respectiv **polisomii XY omogene sau în mozaic** de tipul: *48,XXXY* sau 49,XXXXY.

Analizele hormonale utile în diagnosticul sindromului Klinefelter sunt reprezentate de dozările de: testosteron – nivel scăzut, gonadotrofine hipofizare (FSH şi LH) - nivel crescut.

Tratament. Tratamentul se aplică numai postpubertar şi constă în administrare de hormoni sexuali masculini, cu scopul de inducere a dezvoltării caracterelor sexuale secundare masculine. În general, ginecomastia nu răspunde la tratament hormonal, ci necesită tratament chirurgical, întrucât se însoțeste de creşterea riscului de cancer mamar.

Tratamentul cu testosteron trebuie început de la vârsta normală de debut a pubertății (12-13 ani la băieți) şi continuat, sub îndrumare endocrinologică pe tot parcursul vieții active. În general terapia cu androgeni creşte masa musculară, determină îngroşarea vocii şi apariția pilozității masculine, dar nu modifică aspectul şi funcția testiculilor.

O altă componentă a terapiei vizează tratamentul tulburărilor psihiatrice, care trebuie asigurat prin conlucrarea unui psihiatru şi a unui psiholog. Totuşi, de mare importanță rămâne sprijinul familiei care permite ameliorarea integrării sociale şi creşte confortul psihic al pacientului.

Prognosticul. În majoritatea cazurilor, evoluția pacienților cu sindrom Klinefelter este favorabilă. Astfel, la pacienții cu trisomii XXY (omogene

sau în mozaic) speranța de viață este cvasinormală. În schimb, la indivizii cu polisomii XY (48,XXXY sau 49,XXXXY) speranța de viață este limitată în condițiile în care aceştia prezintă frecvent anomalii congenitale viscerale grave care pot determina deces în perioada copilăriei.

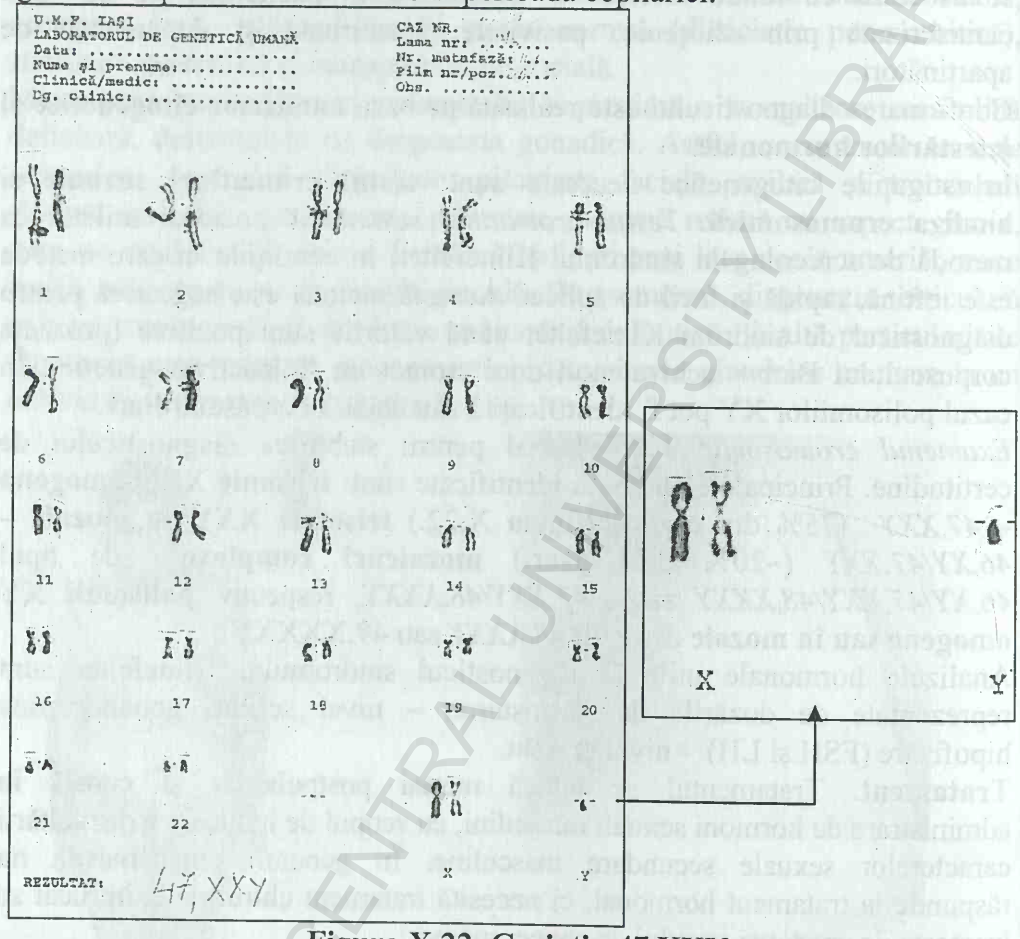


Figura X.22. Cariotip 47,XXY

Inteligența este aproape normală, astfel încât integrarea socială a pacienților poate fi bună sau cel puțin acceptabilă. Totuşi, pot exista tulburări de vorbire care generează dificultăți de adaptare socială. În plus, a fost remarcată o incidență crescută a tulburărilor psihiatrice de tip reactiv la factorii de stress. Singurul aspect clinic care nu poate fi corijat este sterilitatea. În schimb, libidoul sexual nu este marcat sever, astfel încât activitatea sexuală este cvasinormală, mai ales dacă se administrează hormoni sexuali masculini.

Profilaxie. Deoarece sindromul Klinefelter determină sterilitate, boala nu se poate transmite la descendenți (risc de recurență zero).

La cuplurile care au un copil cu SK, riscul de a avea un alt copil afectat este de obicei nesemnificativ (mai mic de 1%) dar este indicat un consult genetic

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

înainte de o nouă sarcină, existând posibilități de diagnostic prenatal. Depistarea bolii înainte de naștere necesită puncție amniotică, urmată de efectuarea analizei cromosomice prin tehnici clasice sau prin metode de citogenetică moleculară (FISH).

X.4. TULBURĂRI DE REPRODUCERE DE CAUZĂ CROMOSOMICĂ

Tulburările de reproducere sunt reprezentate de sterilitate și infertilitate. Sterilitatea este definită ca imposibilitatea unui individ de a forma gameți fecundanți, în timp ce infertilitatea se caracterizează prin terminarea unei sarcini prin avort sau naşterea unui copil anormal. Infertilitatea se poate manifesta prin avorturi spontane repetate, naşterea de copii morți plurimalformați, naşterea de copii vii plurimalformați sau asocierea acestor particularități.

X.4.1. STERILITATEA DE CAUZĂ CROMOSOMICĂ

Datele actuale arată că 10-15% din cupluri sunt sterile, ambii parteneri fiind în mod egal implicați. Sterilitatea poate fi de cauză masculină (20%) feminină (38%) de cuplu (27%) sau idiopatică (15%). Factorii implicați în sterilitate sunt: genetici, endocrini, anatomici, imunologici sau de mediu. În plus, la specia umană interacțiunea dintre membrii cuplului este mai complexă, intervenind și factori emoționali sau psihologici.

În raport cu nivelul la care este afectat axul hipotalamo-hipofizo-gonadic sterilitatea poate fi: hipotalamică, hipofizară, gonadică sau postgonadică.

Afecțiunile care modifică funcția hipotalamică sau hipofizară induc un hipogonadism hipogonadotrop, cele care afectează gonadele determină hipogonadisme hipergonadotrope, în timp ce modificările postgonadice nu sunt asociate de obicei cu hipogonadisme. Sterilitatea de cauză gonadică este definitivă și poate fi determinată de mutații cromosomice sau genice, iar pacienții prezintă un hipogonadism hipergonadotrop.

X.4.1.1. Sterilitatea feminină cromosomică

X.4.1.1.1. Sindromul Turner

Sindromul Turner, determinat de monosomia cromosomului X cauzează insuficiență ovariană, cu creștere ireversibilă a nivelului FSH și LH și niveluri prepubertare ale estrogenilor și progesteronului.

Absența dezvoltării pubertare și a menarhei este depistată la 90% dintre persoanele cu sindrom Turner și în toate cazurile în care coexistă o linie celulară 46,XY. Dar chiar și pacientele care prezintă o pubertate normală, dezvoltă insuficiență ovariană înaintea vârstei de 40 de ani.

Deleţiile localizate Xp11 produc insuficienţă ovariană în jumătate din cazuri. În celălalte cazuri deşi ciclurile menstruale sunt prezente, fertilitatea este rareori prezentă.

În deleţiile localizate mai distal pe braţul scurt al cromosomului X (Xp21) fenotipul este mai puţin marcat, fiind caracterizat prin amenoree secundară şi sterilitate. În condiţiile în care deleţiile de pe braţul lung al cromosomului X sunt localizate Xq13-q26, ele determină absenţa telarhei, amenoree primară şi hipogonadism hipergonadotrop.

Mecanismele moleculare prin care este indusă insuficienţa ovariană nu sunt cunoscute, dar se presupune că sunt corelate cu pierderea unei (unor) gene esenţiale, a cărei (căror) prezenţă este necesară în dublu exemplar pentru dezvoltarea normală a ovarelor. Este posibil ca absenţa acestei gene să modifice mitoza sau meioza celulelor germinale, inducând atrezia foliculară.

X.4.1.1.2. Sindromul triplo X

De obicei, femeile cu trisomie X au un fenotip necaracteristic şi sunt fertile. Totuşi, la unele persoane cu amenoree precoce, cariotipul a relevat existenţa unei trisomii X. La aceste femei, biopsia ovariană a arătat că ovarele conţin doar câţiva foliculi, situaţia similară cu cea observată la femeile normale înainte de menopauză.

X.4.1.1.3. Translocaţiile X-autosom

Translocaţiile X-autosom sunt anomalii cromosomice rare, de obicei fiind implicaţi cromosomii 15, 21 şi 22, a căror regiuni pericentromerice sunt predispuse la împerechere cu cromosomul X în cursul meiozei.

Efectul anomaliei depinde de modul de inactivare al cromosomilor X. În translocaţiile echilibrate, inactivarea se face preferenţial pe cromosomul X normal (Xn) în timp ce cromosomul X cu translocaţie (Xt) rămâne activ. La purtătoarele de translocaţii X-autosom neechilibrate se produce o inactivare preferenţială a cromosomului Xt, necesară pentru a preveni efectele fenotipice ale trisomiei autosomale parţiale.

Bărbaţii purtători de translocaţii X-autosom sunt sterili, în timp ce jumătate dintre femeile purtătoare nu prezintă sterilitate. În cazul în care punctul de ruptură este localizat în intervalul Xq13-q26, dar nu disrupe nici o genă, femeile sunt sterile, în timp ce un punct de ruptură situat în afara intervalului menţionat nu se corelează cu modificarea fertilităţii.

Sterilitatea indusă de prezenţa translocaţiilor X-autosom poate fi consecinţa unui efect de poziţie, a deleţiei unei gene esenţiale pentru funcţia ovariană sau a afectării activităţii cromosomului X în cursul mitozei şi meiozei celulelor germinale. În toate cazurile este favorizată atrezia foliculilor ovarieni.

X.4.1.2. Sterilitatea masculină cromosomică

X.4.1.2.1. Sindromul Klinefelter

Sindromul Klinefelter, determinat de trisomia XXY, reprezintă principala cauză de sterilitate masculină.

Prezența suplimentară a unui cromosom X determină disgenezie testiculară, cu dispariția progresivă a celulelor germinale şi deficit de sinteză a testosteronului.

Spermograma relevă azoospermie. În unele cazuri cu mozaic 46,XY/47,XXY, mai ales la vârste tinere, poate fi depistată o oligospermie. Puncția testiculară atestă distrugerea progresivă a tubilor seminiferi prin sclerohialinizare, asociată cu o atrofie a celulelor Leydig.

Distrugerea tubilor seminiferi şi atrezia celulelor germinale par a fi consecința unui efect de dozaj genic, indus de prezența a doi cromosomi X.

X.4.1.2.2. Bărbații XYY

În trisomia XYY există o afectare a fertilității (care variază între hipofertilitate şi sterilitate) consecință a unei vezicule sexuale anormale, prin asocierea cromosomilor Y şi a cromosomului X. Celulele germinale au dificultăți de spermatogeneză, cu reducerea numărului de spermatozoizi.

X.4.1.2.3. Trisomiile autosomale

Singurele trisomii autosomale care ating vârsta reproductivă sunt trisomia 21 şi trisomia 8 în mozaic, ambele fiind asociate cu sterilitate masculină, dar cu prezența uneori a fertilității prezentă la femei.

X.4.1.2.4. Bărbații XX

Boala, cu o incidență de 1/10000 – 1/20000 de bărbați, reprezintă o anomalie a determinismului sexual, în 80% dintre cazuri fiind determinată de translocația genei SRY (*Sex-determing Region of chromosome Y)* de pe cromosomul Y pe cromosomul X în cursul meiozei paterne. Fenotipul este similar celui din sindromul Klinefelter, dar talia este normală. Testiculii sunt normali în timpul copilăriei, dar postpubertal se atrofiază probabil prin efectul negativ al celui de-al doilea cromosom X. Diagnosticul poate fi stabilit prin tehnica FISH, folosind sonde specifice regiunii SRY sau prin analiză genică.

X.4.1.2.5. Anomalii structurale ale cromosomului Y

Anomaliile constituționale ale cromosomului Y afectează 15% dintre subiecții cu azoospermie şi 6% dintre subiecții cu oligospermie severă. Acestea afectează testiculii, datorită absenței uneia sau mai multor regiuni ale cromosomului Y, implicate în determinismul sau diferențierea sexuală. Cele mai frecvente anomalii sunt microdelețiile Yq. Majoritatea sunt *de novo* şi au fost identificate la 3-18% dintre bărbații cu azoospermie nonobstructivă şi la

BUAM CONTRA UNIVERSITY LIBRARY

5-10% dintre bărbaţii cu oligospermie severă. Evidenţierea microdeleţiilor cromosomului Y poate fi realizată prin tehnica PCR. Alte anomalii posibile sunt: isocromosom Y de braţ lung, cromosom Y inelar şi microdeleţii ale cromosomului Y.

Prezenţa unei microdeleţii pe cromosomul Y determină modificări anatomopatologice testiculare, care variază de la absenţa completă a celulelor germinale (*Sertoli cell-only syndrome* -SCOS) până la blocarea spermatogenezei.

Analizele moleculare au relevat că regiunea critică în microdeleţiile cromosomului Y este localizată Yq11.23, fiind denumită *AZF* (*AZoospermia Factor*). Regiunea AZF a fost împărţită în trei domenii notate: AZFa, AZFb şi AZFc. Deleţiile subregiunii **AZFa** sunt rare (1-5%) dar severe, fiind asociate cu SCOS. Studiile moleculare au arătat că genele cel mai probabil implicate sunt *USP9Y* şi *DBY* . Deleţiile **AZFb** (16%) şi **AZFc** (60%) sunt mai frecvente, fiind asociate cu blocarea spermatogenezei. La nivelul regiunii AZFb a fost identificată gena *RBMY*. La nivelul regiunii AZFc a fost identificată gena *DAZ* care codifică o proteină ce se fixează pe ARN şi este exprimată doar în celulele germinale testiculare.

X.4.1.2.6. Anomalii structurale echilibrate

Anomaliile cromosomice structurale echilibrate, reprezentate de inversii şi translocaţii (inserţii, reciproce şi Robertsoniene) cauzează sterilitate masculină prin afectarea formării veziculei sexuale datorită prezenţei cromosomului(ilor) derivativ(i).

Inversiile cromosomilor 1, 2, 3, 5, 6, 7 şi 9 au fost asociate cu sterilitatea masculină, incidenţa lor fiind de 8 ori mai mare decât la persoanele normale.

Translocaţiile reciproce şi inserţiile reprezintă cauza sterilităţii masculine în aproximativ 1% din cazuri, incidenţa fiind mai mare în azoospermii.

Azoospermia este consecinţa unei blocări a spermatogenezei, indusă de modificarea configuraţiei meiotice normale.

Translocaţiile Robertsoniene sunt implicate în circa 0,7% dintre cazurile cu sterilitate masculină, cea mai frecventă fiind translocaţia rob(13;14).

Afectarea fertilităţii variază de la o spermatogeneză cvasinormală până la blocarea aproape completă a spermatogenezei. Acest aspect este dovedit de existenţa unor cazuri familiale, în care membri diferiţi ai aceleiaşi familii, purtători de translocaţie, unii sunt sterili, unii au hipofertilitate, iar alţii prezintă fertilitate normală.

X.4.2. INFERTILITATEA DE CAUZĂ CROMOSOMICĂ

X.4.2.1. Avorturile spontane

Avorturile spontane reprezintă pierderea inexplicabilă a unei sarcini, înainte ca fătul să fie capabil să supravieţuiască extrauterin. Practic, orice întrerupere spontană a sarcinii înainte de săptămâna 20 de gestaţie este considerată avort. În raport cu momentul producerii avorturile se împart în mai multe categorii (tabelul X.7.).

Tabelul X.7. Tipuri de avort spontan

Termen	Caracteristici
Avort biochimic	Titru pozitiv al β-hCG în primele 10 zile postovulator, fără a fi depistată clinic ulterior sarcina
Avort preclinic	Avort înainte de săptămâna a 6 postmenstrual, datorit incapacităţii de implantare sau a unei disrupţii embrionare precoce
Sarcină anembrionică	Depistarea ecografică a unui sac gestaţional gol, la 6-7 săptămâni după ovulaţie
Avort "pierdut"	Depistarea de părţi fetale, cu activitate cardiacă absentă, reţinute în uter după moartea fătului
Moarte fetală intrauterină	Moartea fătului după a 20 săptămână de sarcină, fără a fi declanşat travaliul

Frecvenţa avorturilor spontane variază între 12 şi 50%, dependent de modul de evaluare a sarcinii. În sarcinile depistate clinic, rata avorturilor spontane este de 12-15%, majoritatea pierderilor de sarcină producându-se între săptămânile 7 şi 11 de gestaţie.

În produşii de avort au fost identificate toate tipurile de anomalii cromosomice neechilibrate. În mod cert, există o corelaţie între incidenţa avorturilor spontane şi cea a aneuploidiilor. Totuşi, cu excepţia trisomiilor 21, 18 şi 13, pentru celălalte trisomii nu a fost posibilă stabilirea unui risc semnificativ de recurenţă la următoarele sarcini. Cel puţin 5% din produşii de concepţie umani prezintă aneuploidie, dar este posibil ca această valoare să fie subestimată, deoarece mulţi embrioni aneuploidie îşi întrerup evoluţia înainte ca sarcina să devină evidentă clinic. În cazul produşilor de avort au fost identificate toate tipurile de trisomie. Trisomia 16 este cea mai frecventă trisomie (26,9% dintre trisomii) dar cea mai frecventă aneuploidie este monosomia X (1/4 din totalul aneuploidiilor). Trisomiile gonosomale au o frecvenţă redusă în produşii de avort (0,2%) ceea ce atestă severitatea mică a acestora.

Triploidia reprezintă aproximativ 15% din totalul anomaliilor citogenetice identificate la produşii de avort. Majoritatea triploidiilor determină formarea unei mole hidatiforme incomplete, caracterizată prin hiperplazie trofoblastică, modificări hidatiforme ale unor porţiuni vilozitare şi

existența în sacul embrionar de segmente fetale mai mult sau mai puțin dezorganizate. Tetraploidia induce 5% din avorturile spontane, majoritatea acestora producându-se în săptămânile 10-14 de gestație.

Anomaliile cromosomice structurale neechilibrate determină 2% dintre avorturile spontane, jumătate dintre aceste anomalii fiind *de novo*.

X.4.2.2. Avorturile recurente

Avorturile recurente sunt definite prin existența a mai mult de două avorturi spontane consecutive la același cuplu. Aproximativ 0,8-1% din cupluri au mai mult de 3 avorturi spontane consecutive. Riscul de recurență al unui avort spontan poate fi calculat empiric, iar rezultatele sunt următoarele: 12% după un prim avort spontan, 24% după două avorturi spontane consecutive şi 36% după mai mult de 3 avorturi spontane consecutive.

Principalele cauze de avorturi recurente sunt: malformațiile uterine (15-30% din cazuri) bolile endocrine (defecte ale fazei luteale, sindromul ovarelor polichistice – 23-40% din cazuri) cauzele genetice (anomalii cromosomice şi boli monogenice) şi tulburările imunologice (bolile autoimune caracterizate prin formarea de autoanticorpi).

Majoritatea avorturile recurente de cauză cromosomică sunt consecința unor anomalii cromosomice structurale neechilibrate, translocațiile neechilibrate fiind răspunzătoare pentru 5% din avorturile recurente. În aceste cazuri, unul dintre membrii cuplului, de obicei femeia, este purtător al unei translocații echilibrate (reciprocă sau Robertsoniană). Aproximativ 80% dintre sarcinile unei femei purtătoare de translocație echilibrată se încheie prin avort spontan, 16% se finalizează prin naşterea unui copil sănătos, iar aproximativ 4% se termină prin naşterea unui copil cu un sindrom plurimalformativ, determinat de o anomalie cromosomică neechilibrată.

Un alt factor care trebuie luat în considerare este tipul de anomalie şi cromosomii implicați. De exemplu, purtătorii de translocații Robertsoniene echilibrate între doi cromosomi 21 prezintă numeroase avorturi spontane, deoarece în cursul meiozei se formează doar gameți cu dezechilibre genetice (nulisomie sau disomie 21).

Inversiile cromosomice sunt răspunzătoare pentru aproximativ 0,3% dintre avorturile recurente, iar riscul de naştere a unui copil anormal este de 4-8%. Inversiile paracentrice au un risc mult mai mic decât cele pericentrice. În cazul inversiilor pericentrice riscul de recurență al avorturilor depinde de dimensiunea inversiei şi de cantitatea de eucromatină a segmentului inversat. Astfel, dacă prin recombinare intracromosomică la nivelul buclei de inversie rezultă un gamet, ce asociază o duplicație mare şi o deleție mare, probabilitatea de terminare a sarcinii prin avort este crescută. De asemenea, prezența la nivelul inversiei a unei regiuni bogate în eucromatină, a cărei

monosomie parțială este incompatibilă cu supraviețuirea produsului de concepție, crește riscul de avorturi recurente.

X.4.2.3. Nou-născuții morți

În cazul nou-născuților morți plurimalformați, deseori este prezentă o anomalie cromosomică neechilibrată (aneuploidie sau anomalii structurale neechilibrate). La nou-născuții morți se estimează că trisomia are o incidență de 40%, adică de 10 ori mai mare decât cea a nou-născuților vii. Cele mai frecvente sunt trisomiile cromosomilor 21, 18, 13, 9 și 22.

X.5. INDICAȚIILE PRACTICE ALE STUDIULUI CROMOSOMILOR UMANI

Ținând cont de particularitățile generale ale bolilor (anomaliilor) cromosomice, devin evidente circumstanțele în care **se impune efectuarea analizei cromosomice**:

1. La indivizii cu **stări intersexuale**, analiza cromosomilor permite *stabilirea concordanței între sexul genetic* (care condiționează dezvoltarea organelor genitale) *și cel civil* (sexul trecut în acte, în raport cu care se face integrarea în societate), precum și decelarea unor eventuale anomalii cromosomice.
2. La indivizii cu **sindroame plurimalformative** (trei sau mai multe malformații) cu sau fără retard mental, este utilă efectuarea analizei cromosomice, deoarece poate fi identificată prezența unei *anomalii cromosomice numerice sau structurale neechilibrate mici*; analiza cromosomică este importantă chiar și când diagnosticul clinic este cert, ca în sindromul Down, deoarece permite depistarea tipului de dezechilibru cromosomic, aspect important pentru acordarea sfatului genetic.
3. În **debilitățile mentale de cauză necunoscută**, cu sau fără tulburări de comportament, efectuarea cariotipului poate indica prezența unei *anomalii cromosomice structurale neechilibrată.*
4. La persoane cu **dezvoltare anormală a caracterelor sexuale secundare** (de exemplu băieți cu pilozitate sexuală redusă și voce înaltă) sau întârzierea apariției pubertății (în special la fete cu talie mică sau la băieți longilini) efectuarea cariotipului permite identificarea unei *anomalii gonosomice* (monosomie X sau trisomie XXY).
5. La **cuplurile cu sterilitate primară** de origine nedeterminată efectuarea cariotipului poate releva o *anomalie gonosomică sau o anomalie structurală echilibrată.*
6. La **cuplurile cu avorturi spontane repetate** sau **copii născuți morți**, efectuarea cariotipului poate indica prezența unei *anomalii cromosomice*

echilibrate, răspunzătoare de accidentele reproductive. Efectuarea cariotipului la **produşii de avort** poate indica existența unei *anomalii numerice sau a unei anomalii cromosomice structurale neechilibrată letale.*

7. La **părinții copiilor cu anomalii structurale neechilibrate** (cu boli cromosomice), efectuarea cariotipului este necesară, deoarece poate releva prezența unei *anomalii cromosomice structurale echilibrate*, La **rudele apropiate ale indivizilor cu anomalii cromosomice echilibrate** efectuarea cariotipului poate releva *aceeaşi anomalie*, aspect important pentru stabilirea riscului de recurență al anomaliei.
8. La **persoanele expuse la acțiunea unor agenți mutageni** (radiații ionizante, agenți alchilanți) efectuarea analizei cromosomice permite, uneori, identificarea unor *anomalii cromosomice structurale neechilibrate dobândite*[88], de tipul cromosomilor inelari sau cromosomilor dicentrici.
9. În unele forme de **cancer**, efectuarea cariotipului poate releva o *anomalie cromosomică structurală dobândită.* Astfel, în leucemia mieloidă cronică poate fi identificat cromosomul Philadelphia 1 (translocație între cromosomii 9 şi 22) în retinoblastom există o deleție 13q−, iar în tumora Wilms (nefroblastom) poate fi identificată o deleție 11p−. Detecția anomaliei cromosomice specifice este utilă pentru identificarea recidivelor şi, în unele cazuri, pentru stabilirea prognosticului pacienților.
10. **Diagnosticul prenatal** este indicat pentru cuplurile cu risc crescut (un părinte purtător al unei anomalii cromosomice echilibrate, cupluri care au avut copii cu anomalii cromosomice neechilibrate, vârstă maternă avansată – peste 35 de ani - în momentul concepției). Realizarea analizei cromosomilor din celulele fetale (din lichidul amniotic sau vilozitățile coriale) permite evidențierea unor *anomalii cromosomice numerice sau structurale neechilibrate.* În cazul identificării unor anomalii cromosomice cuplul parental poate opta pentru întreruperea sarcinei.

---

[88] Anomalie dobândită – anomalie cromosomică apărută pe parcursul vieții, datorită apariției de mutații noi şi care de regulă are caracter clonal, fiind prezentă doar în unele celule din anumite țesuturi

BCU IAŞI

XI. BOLILE MONOGENICE

XI.1. GENERALITĂȚI

Modificările permanente ale genelor, care se pot propaga (transmite) de la o generație de organisme la alta, sunt denumite **mutații**. Ele sunt cauzate de factori mutageni externi fizici, chimici, biologici, care modifică accidental structura materialului genetic.

Mutația unei gene poate modifica major expresia unui caracter (absența unei enzime, producerea unei proteine toxice, etc.) generând un fenotip anormal - **boală genetică**.

Bolile monogenice *sunt produse prin mutații care afectează o singură pereche de gene alele.* Bolile monogenice sunt caracterizate prin fenotipuri anormale, determinate exclusiv de factorii ereditari. Ele reprezintă o parte importantă a patologiei genetice, deoarece sunt **numeroase** - peste 4.500 de entități clinice distincte, per ansamblu sunt **relativ frecvente** – afectând 1-2% dintre nou-născuții vii - și au un **impact deosebit asupra individului și familiei sale**, fiind boli cronice, cu risc ridicat de recurență la descendenți.

Bolile monogenice se transmit ereditar conform legilor lui Mendel. Identificarea unuia dintre tipurile mendeliene de transmitere genealogică pentru o anumită boală ereditară permite, de obicei, evaluarea corectă a *riscului de recurență* al afecțiunii la alți membri ai familiei. De aceea, dacă o boală ereditară este prezentă într-o anumită familie, investigația genetică presupune în primul rând efectuarea anamnezei familiale și a arborelui genealogic.

Pe baza arborelui genealogic, folosind criterii specifice fiecărui tip, se poate stabili modul de transmitere monogenic al afecțiunii: dominant sau recesiv, autosomal sau legat de cromosomul X.

Evaluarea tipului de transmitere ereditară a unei boli genetice poate fi extrem de dificilă, datorită manifestărilor variabile ale mutațiilor și fenomenului de heterogenitate genetică. Bolile care se transmit genealogic după criterii mendeliene sunt prezentate într-un vast catalog – „*Mendelian Inheritance in Man*" (ed. 12, 1998) și pot fi consultate și online pe site-ul OMIM (*Online Mendelian Inheritance in Man*) (tabelul XI.1.).

În acest capitol genele mutante *anormale* vor fi notate cu „A", dacă sunt dominante, respectiv cu „a" dacă sunt recesive. În raport cu gena mutantă variantele alelice *normale* corespunzătoare vor fi notate cu „n" (genă normală recesivă) respectiv „N" (genă normală dominantă).

Tabelul XI.1. Exemple de boli monogenice.

TIP DE TRANSMITERE	EXEMPLE DE BOLI MONOGENICE
Dominant Autosomal	o Coreea Huntington o Boala Steinert (distrofia miotonică) o Acondroplazia o *Osteogenesis imperfecta* o Hipercolesterolemia familială o Sindromul Marfan o Aniridia o Boala polichistică renală dominant autosomală o Sindromul Alport o Epidermoliza buloasă o Ihtioza vulgară o Hipercheratoza palmo-plantară o Boala von Willebrand o Microsferocitoza ereditară Minkowski-Chauffard o Cancerul de sân o Cancerul de colon nonpolipozic o Polipoza colică familială o Retinoblastomul
Dominant legat de cromosomul X (rare)	- Sindromul Rett - Rahitismul hipofosfatemic (rezistent la vitamina D) - Incontinentia pigmenti - Sindromul Goltz
Recesiv Autosomal	- Glicogenozele - Galactozemia - Sindromul Morquio, - Sindromul Hurler - Boala Niemann-Pick, - Boala Gaucher - Fenilcetonuria, - Homocistinuria - Drepanocitoza, - Beta-talasemia - Albinismul oculo-cutanat - *Xeroderma pigmentosum* - Mucoviscidoza - Retinopatia pigmentară - Surditatea congenitală
Recesiv legat de cromosomul X	- Distrofia musculară Duchenne / Becker - Hemofilia A şi B - Deficitul de G6PD - Albinismul ocular - Discromatopsiile (daltonismul) - Boala Lesch-Nyhan - Diabetul insipid nefrogen

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

XI.2. TRANSMITEREA DOMINANTĂ

O boală genetică este considerată **dominantă** *în situația în care se manifestă atât la homozigoți, cât și la heterozigoți.* Alterarea unei singure alele duce la apariția fenotipului anormal la heterozigoți prin diferite mecanisme:

- *haploinsuficiență* – când singura genă normală nu produce o cantitate de proteină suficientă pentru realizarea funcțiilor celulare;
- *câștig de funcție* – când proteina mutantă este produsă în cantități prea mari, uneori ectopic sau are o activitate funcțională crescută;
- *sinteză de proteine toxice sau cu alte funcții fiziologice* decât cea normală;
- *efecte dominante negative* – când proteina anormală face parte din complexe multimerice și interferă cu funcția proteinei normale.

Bolile dominante sunt boli rare (cele mai frecvente au o incidență de 1:1.000 indivizi), iar căsătoriile între bolnavi sunt foarte rare, exceptând căsătoriile asortative, precum cele dintre doi bolnavi de acondroplazie sau doi surzi. Astfel, homozigoții afectați sunt extrem de rari. În plus, deseori homozigoții pentru alela mutantă sunt mai grav afectați decât heterozigoții - *dominanță incompletă* (ex. hipercolesterolemia familială) sau sunt neviabili (ex. acondroplazia). În consecință, în majoritatea cazurilor, bolnavii cu afecțiuni dominante sunt heterozigoți (cu o singură alelă mutantă) sau hemizigoți (tabelul XI.2.).

Tabel XI.2. Corelația între genotip și fenotip în cazul bolilor dominante

	Transmiterea dominantă autosomală		**Transmiterea dominant legată de cromosomul X**	
Genotipuri	AA An	nn	X^AX^A X^AX^n X^AY	X^nX^n X^nY
Fenotipuri	Bolnavi	Sănătoși	Bolnavi	Sănătoși

Au fost identificate boli dominante determinate de mutații la nivelul unor loci genetici de pe autosomi (**boli dominante autosomale**) sau de mutații la nivelul unor loci de pe cromosomul X (**boli dominante legate de cromosomul X**, gonosomale).

Bolile dominante prezintă următoarele caracteristici generale:

- Număr mare de bolnavi în familie - în familiile cu boli dominante, frecvența bolnavilor este mare deoarece toți indivizii care au gena anormală (AA, An sau X^AX^A, X^AX^n, X^AY) sunt bolnavi.
- Continuitatea transmiterii bolii din generație în generație - ***transmitere genealogică verticală*** - deoarece toți indivizii bolnavi pot transmite gena

anormală unora dintre descendenţi, iar orice bolnav moşteneşte afecţiunea de la unul dintre părinţi[89].

- Doi părinţi sănătoşi nu pot avea copii bolnavi deoarece, neavând genele anormale, nu le pot transmite copiilor lor.
- Doi părinţi bolnavi pot avea copii sănătoşi - dacă ambii părinţi bolnavi sunt heterozigoţi (boli autosomale) sau mama este heterozigotă (X^AX^n boli legate de cromosomul X), ei pot transmite genele normale unora dintre descendenţi şi pot avea copii sănătoşi.
- Consanguinitate absentă sau redusă deoarece un individ bolnav poate avea copii bolnavi, indiferent dacă se căsătoreşte cu o persoană sănătoasă neînrudită sau cu o persoană din aceeaşi familie.

XI.2.1. TRANSMITEREA DOMINANTĂ AUTOSOMALĂ

Bolile dominante autosomale *sunt consecinţa mutaţiilor dominante produse la nivelul unor loci de pe autosomi.* Există numeroase afecţiuni de acest tip, unele fiind frecvente (hipercolesterolemia familială - 1:500 indivizi; boala polichistică renală dominant autosomal - 1:1.000 indivizi). Ambele sexe sunt afectate în proporţii relativ egale, bolnavii fiind în majoritate heterozigoţi.

În figura XI.1. este prezentat arborele genealogic al unei boli cu transmitere dominant autosomală.

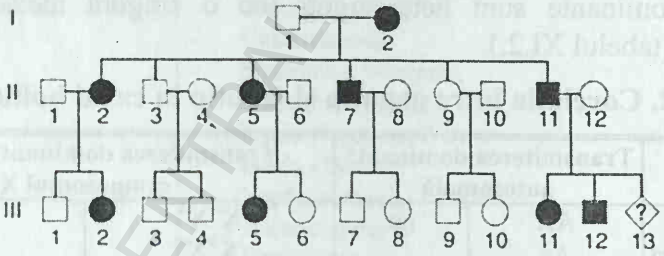


Figura XI.1. Arbore genealogic sugestiv pentru o boală ereditară dominantă autosomală

Pe lângă caracterele generale ale bolilor dominante, bolile dominant autosomale se particularizează prin:

- *Bărbaţii şi femeile sunt afectaţi în proporţii egale.*
- *Atât bărbaţii, cât şi femeile pot transmite afecţiunea la descendenţii lor.*
- *Doi părinţi cu boală dominantă pot avea copii sănătoşi şi băieţi şi fete.*
- *Bărbaţii bolnavi pot transmite boala fiilor lor* (transmitere tată – fiu posibilă) dovadă că gena mutantă nu se găseşte pe cromosomul X, pe care băieţii îl moştenesc de la mame.

[89] Cu excepţia bolilor cu penetranţă incompletă

- *Bărbaţii bolnavi (*heterozigoţi*) pot avea fiice sănătoase* - naşterea unei fete sănătoase, când tatăl este afectat, este o dovadă a faptului că gena mutantă se găseşte pe alt cromosom decât cromosomul X.
- *Riscul de recurenţă a bolii la descendenţii unui pacient (indiferent de sex) este în general de 50%.* (tabelul XI.3.).

Tabelul XI.3. Tabelul Punett pentru calculul riscului de recurenţă pentru boli dominante autosomale (un părinte afectat)

		Mama	
		n	n
Tată	A	An	An
	n	nn	nn

În tabelul XI.4. sunt prezentate posibilităţile de moştenire a genelor A şi n în bolile dominant autosomale dependent de genotipurile parentale.

Tabelul XI.4. Bolile dominante autosomale: cupluri parentale şi descendenţii lor

Încrucişări parentale	Genotipuri parentale	Gameţi	Genotipuri copii	Fenotipuri copii (proporţii)
Ambii părinţi sunt sănătoşi	nn + nn	n x n	nn	sănătoşi
Un părinte bolnav (heterozigot) şi un părinte sănătos	An + nn	(A + n) x n	An (1/2) nn (1/2)	bolnavi (1/2) sănătoşi (1/2)
Un părinte bolnav (homozigot) şi un părinte sănătos	AA + nn	A x n	An (toţi)	bolnavi (toţi)
Ambii părinţi sunt bolnavi (heterozigoţi)	An + An	(A + n) x (A + n)	AA (1/4) An (1/2) nn (1/4)	bolnavi (3/4) sănătoşi (1/4)
Ambii părinţi sunt bolnavi (homozigot + heterozigot)	AA + An	A x (A + n)	AA (1/2) An (1/2)	bolnavi (toţi)
Ambii părinţi sunt bolnavi (homozigoţi)	AA + AA	A x A	AA (toţi)	bolnavi (toţi)

XI.2.2. TRANSMITEREA DOMINANTĂ LEGATĂ DE CROMOSOMUL X

Aceste boli, destul de rare, *sunt consecinţa mutaţiilor genelor situate pe cromosomul X.* În bolile dominante legate de cromosomul X, atât femeile (de obicei heterozigote) cât şi bărbaţii (hemizigoţi) pot fi afectaţi.

Datorită procesului de inactivare întâmplătoare a unuia dintre cromosomii X, femeile heterozigote pentru o mutaţie dominantă a unei gene de pe cromosomul X vor avea un tablou clinic extrem de variat. Unele boli

dominante gonosomale se manifestă doar la femei (de exemplu *incontinentia pigmenti*), fiind letale pentru embrionii de sex masculin.

În figura XI.2. este prezentat un arbore genealogic caracteristic unei boli dominante legate de cromosomul X.

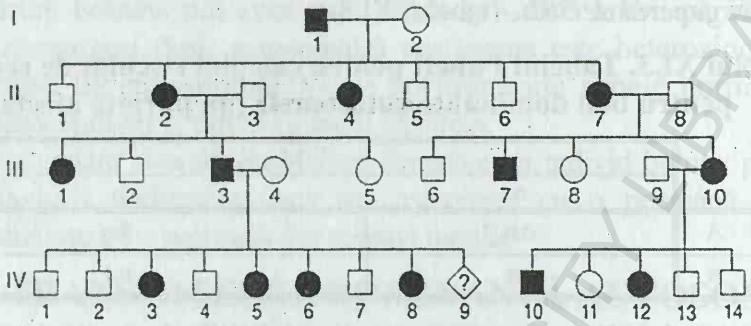


Figura XI.2. Arbore genealogic sugestiv pentru o boală ereditară dominantă legată de cromosomul X

În afara caracterelor generale ale bolilor dominante, bolile legate de cromosomul X se particularizează prin:

- Atât femeile, cât şi bărbaţii pot fi afectaţi, dar *există o predominanţă a femeilor bolnave (*aproximativ 2:1 faţă de bărbaţii bolnavi*).*
- Atât femeile, cât şi bărbaţii pot transmite afecţiunea la descendenţi, dar riscul de recurenţă depinde de sexul acestora.
- Doi părinţi bolnavi pot avea copii sănătoşi exclusiv băieţi.
- *Bărbaţii bolnavi nu pot transmite boala fiilor lor,* dovadă că gena mutantă se găseşte pe cromosomul X, moştenită de băieţi de la mame.
- *Bărbaţii bolnavi nu pot avea fiice sănătoase* – în acest tip de transmitere toate fetele moştenesc X anormal patern şi vor fi bolnave
- *Riscul de recurenţă a bolii la descendenţii unui pacient cu o boală dominantă legată de cromosomul X este de 50%.* Un bărbat bolnav (căsătorit cu o femeie sănătoasă) va avea toate fiicele bolnave şi toţi fiii sănătoşi, în timp ce riscul de recurenţă a bolii la descendenţii unui femei cu o boală dominantă gonosomală va fi de 50%, indiferent de sexul copiilor (tabelul XI.5.).

Tabelul XI.5. Tabelul Punett pentru calculul riscului de recurenţă pentru boli dominante legate de cromosomul X (tată afectat şi mamă sănătoasă)

		Mama	
		X^n	X^n
Tatăl	X^A	X^AX^n	X^AX^n
	Y	X^nY	X^nY

În tabelul XI.6. sunt prezentate posibilitățile de moștenire a genelor A și n în bolile dominant legate de cromosomul X dependent de genotipurile parentale.

Tabelul XI.6. Cuplurile parentale și descendenții lor în bolile dominante legate de cromosomul X

Încrucișări parentale	Genotipuri parentale	Gameți	Genotipuri copii	Fenotipuri copii
Ambii părinți sunt sănătoși	$X^nX^n + X^nY$	(X^n) x $(X^n + Y)$	X^nX^n (1/2) X^nY (1/2)	toți sănătoși (ambele sexe)
Mama bolnavă (heterozigotă) și tatăl sănătos	$X^AX^n + X^nY$	$(X^A + X^n)$ x $(X^n + Y)$	X^AX^n (1/4) X^AY (1/4) X^nX^n (1/4) X^nY (1/4)	-bolnavi (1/2) (ambele sexe) -sănătoși (1/2) (ambele sexe)
Mama bolnavă (homozigotă) și tatăl sănătos	$X^AX^A + X^nY$	(X^A) x $(X^n + Y)$	X^AX^n (1/2) X^AY (1/2)	toți bolnavi (ambele sexe)
Mama sănătoasă și tatăl bolnav	$X^nX^n + X^AY$	(X^n) x $(X^A + Y)$	X^AX^n (1/2) X^nY (1/2)	- fete bolnave (1/2) - băieți sănătoși (1/2)
Mama bolnavă (heterozigotă) și tatăl bolnav	$X^AX^n + X^AY$	$(X^A + X^n)$ x $(X^A + Y)$	X^AX^A (1/4) X^AX^n (1/4) X^AY (1/4) X^nY (1/4)	- fete bolnave (1/2) - băieți bolnavi (1/4) - băieți sănătoși (1/4)
Mama bolnavă (homozigotă) și tatăl bolnav	$X^AX^A + X^AY$	(X^A) x $(X^A + Y)$	X^AX^A (1/2) X^AY (1/2)	toți bolnavi (ambele sexe)

XI.3. TRANSMITEREA RECESIVĂ

O boală genetică este considerată **recesivă** în situația în care se manifestă doar la indivizii homozigoți (care prezintă aceeași mutație la nivelul locilor omologi) sau la heterozigoții compuși (care au în locii omologi, gene mutante anormale diferite). Mutațiile genice pot duce la apariția fenotipului anormal recesiv prin diferite mecanisme:

- producerea unei proteine anormale instabile care nu își poate îndeplini funcția celulară;
- absența unei enzime și devierea căii metabolice corespunzătoare cu producerea de metaboliți toxici.

Bolile recesive sunt boli rare (cele mai frecvente pot afecta 1:2.500 indivizi), iar căsătoriile între bolnavi sunt excepționale, survenind mai frecvent în comunități de persoane cu un handicap comun (de exemplu surditate). Cel mai adesea, numărul de persoane bolnave dintr-o familie este redus (uneori există un singur caz), iar părinții indivizilor afectați sunt sănătoși (purtători heterozigoți ai mutației). Este de subliniat faptul că orice

persoană sănătoasă are câteva mutaţii recesive nemanifeste, pe care le poate transmite descendenţilor săi (tabelul XI.7.).

Tabelul XI.7. Corelaţii între genotip şi fenotip pentru bolile recesive

	TRANSMITEREA RECESIVĂ AUTOSOMALĂ		TRANSMITEREA RECESIVĂ GONOSOMALĂ	
GENOTIPURI	aa	NN Na	X^aX^a X^aY	X^NX^N X^NX^a X^NY
FENOTIPURI	Bolnavi	Sănătoşi	Bolnavi	Sănătoşi

Au fost identificate, atât boli recesive determinate de mutaţii la nivelul unor loci de pe autosomi (**boli recesive autosomale**) cât şi afecţiuni determinate de mutaţii la nivelul unor loci de pe cromosomul X (**boli recesive legate de cromosomul X**).

Bolile recesive prezintă următoarele caracteristici generale:

- *Număr redus de bolnavi în familie* - boala se manifestă numai la indivizi homozigoţi (aa sau X^aX^a) sau hemizigoţi (X^aY) numărul acestora fiind mai mic decât cel al persoanelor sănătoase homozigote sau heterozigote; de obicei, bolnavii se găsesc în aceiaşi generaţie – **transmitere orizontală**.
- *Boala se transmite discontinuu, cu salturi peste una sau mai multe generaţii* - un individ afectat (aa, X^aX^a, X^aY) poate avea numai copii sănătoşi (Na sau X^NX^a) dacă se căsătoreşte cu o persoană sănătoasă, nepurtătoare a genei anormale (NN, X^NX^N, X^NY). Dacă copiii se căsătoresc cu persoane care nu au mutaţia, boala va absenta în mai multe generaţii, deşi gena anormală se transmite. Apariţia unor alţi indivizi bolnavi în familie este condiţionată de căsătoria întâmplătoare a doi heterozigoţi.
- *Numărul bolnavilor cu afecţiuni recesive este mai ridicat în familiile în care există căsătorii consanguine* - consanguinitatea creşte riscul asocierii într-un cuplu a doi heterozigoţi pentru aceeaşi mutaţie, pe care au moştenit-o de la un strămoş comun şi pe care o pot transmite concomitent la unii dintre descendenţii lor (aceştia fiind homozigoţi)[90].
- *Doi părinţi sănătoşi pot avea copii bolnavi* - părinţii sănătoşi heterozigoţi (Na, X^NX^a) pot transmite genele anormale unora dintre descendenţii lor – când aceştia sunt homozigoţi (aa) sau hemizigoţi (X^aY) vor manifesta fenotipul anormal.
- *Doi părinţi bolnavi nu pot avea copii sănătoşi* - părinţii homozigoţi pentru gena mutantă (aa) nu pot avea copii sănătoşi, deoarece nici unul dintre ei nu posedă gene normale pe care să le transmită descendenţilor.

[90] Pentru evitarea efectelor negative a consanguinităţii, în România este interzisă căsătoria între persoane cu grad de rudenie mai mic de IV

XI.3.1. TRANSMITEREA RECESIVĂ AUTOSOMALĂ

Bolile recesive autosomale sunt determinate de mutații ale unor gene situate pe autosomi (afectând în proporții egale femeile și bărbații) dar manifeste doar la homozigoți sau la heterozigoții compuși, genele mutante fiind recesive față de alelele normale dominante (figura XI.3.).

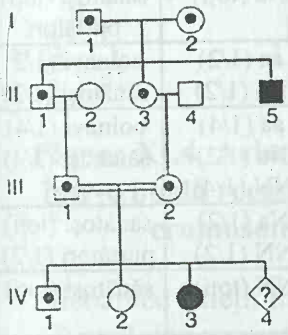


Figura XI.3. Arbore genealogic într-o boală cu transmitere recesivă autosomală

Bolile recesive autosomale sunt numeroase și, deseori, au consecințe grave asupra calității vieții și prognosticului vital al pacientului (mucoviscidoza, mucopolizaharidoze, aminoacidopatii, albinismul).

În afara caracterelor generale ale bolilor recesive, maladiile autosomale se particularizează prin:

- Cu cât o boală recesivă autosomală este mai rară în populație, cu atât este mai frecventă consanguinitatea în familiile bolnavilor.
- Bărbații și femeile sunt afectați în proporții egale.
- Doi părinți sănătoși (heterozigoți) pot avea copii bolnavi și băieți și fete.
- *Bărbații sănătoși (Na) pot avea fiice bolnave,* dovadă că locusul genetic implicat nu se găsește pe cromosomul X.
- *Femeile bolnave (*homozigote*) pot avea fii sănătoși* - nașterea unui băiat sănătos, când mama este afectată, este o dovadă a faptului că gena mutantă se găsește pe alt cromosom decât cromosomul X.
- Când părinții sunt sănătoși heterozigoți, riscul de recurență a bolii în fratria unui bolnav (indiferent de sex) cu o maladie recesivă autosomală este de 25% (tabelul XI.8.).

Nașterea unui copil bolnav când un părinte este afectat (aa) iar celălalt este sănătos (Na) mimează o transmitere dominantă și este denumită *pseudodominanță.* În această situație riscul de recurență a afecțiunii la ceilalți descendenți ai cuplului este de 50%.

În tabelul XI.9. sunt prezentate posibilitățile de moștenire a genelor a și N în bolile recesiv autosomale dependent de genotipurile parentale.

Tabelul XI.8. Tabelul Punett pentru calculul riscului de recurență în fratria unui bolnav cu o boală recesivă autosomală

		Mama	
		N	a
Tata	N	NN	Na
	a	Na	aa

Tabelul XI.9. Cuplurile parentale şi descendenţii lor în boli recesive autosomale

Încrucişări parentale	Genotipuri parentale	Gameţi	Genotipuri copii	Fenotipuri copii
Ambii părinţi sunt bolnavi	aa + aa	a x a	aa (toţi)	bolnavi (toţi)
Un părinte bolnav şi un părinte sănătos (homozigot)	aa + NN	a x N	Na (toţi)	sănătoşi (toţi) purtători
Un părinte bolnav şi un părinte sănătos (heterozigot)	aa + Na	a x (a + N)	aa (1/2) Na (1/2)	bolnavi (1/2) sănătoşi (1/2)
Ambii părinţi sănătoşi (heterozigoţi)	Na + Na	(a + N) x (a + N)	aa (1/4) Na (1/2) NN (1/4)	bolnavi (1/4) sănătoşi (3/4)
Ambii părinţi sunt sănătoşi (homozigot + heterozigot)	NN + Na	N x (a + N)	Na (1/2) NN (1/2)	sănătoşi (toţi) purtători (1/2)
Ambii părinţi sunt sănătoşi - homozigoţi	NN + NN	N x N	NN (toţi)	sănătoşi (toţi)

XI.3.2. TRANSMITEREA RECESIVĂ LEGATĂ DE CROMOSOMUL X

Bolile recesive legate de cromosomul X sunt determinate de o mutaţie a uneia dintre genele localizate pe acest gonosom. Există o preponderenţă a afecţiunii la bărbaţi, deoarece produşii de concepţie X^aX^a sunt de regulă avortaţi spontan. Apariţia la o femeie a unei boli recesive legate de cromosomul X poate fi consecinţa:

- *procesului de inactivare* în proporţie mai mare a cromosomului X, care conţine alela normală (femeia fiind în acest caz heterozigotă);
- a unor *anomalii ale cromosomului X* (monosomie X, deleţii ale cromosomului X) prin care se pierde alela normală - femeia este hemizigotă, având doar gena mutantă;
- *prezenţei mutaţiei la homozigote,* în afecţiuni mai puţin grave (de exemplu discromatopsii – incapacitatea de a distinge culoarea roşie sau verde).

Femeile heterozigote sunt de obicei asimptomatice (sănătoase) dar pot fi uneori depistate prin identificarea de semne minore de boală (pigmentarea „în mozaic" a retinei la femeile heterozigote pentru mutaţia ce produce albinismul ocular, creşterea activităţii creatin-kinazei serice la purtătoarele mutaţiei pentru distrofia musculară Duchenne etc.).

În figura XI.4. este prezentat arborele genealogic caracteristic unei afecţiuni recesive legate de cromosomul X.

Bolile recesive legate de cromosomul X se particularizează prin:

- Bolnavii sunt în general descendenţii unor indivizi sănătoşi;
- Boala este prezentă aproape în exclusivitate la bărbaţi;

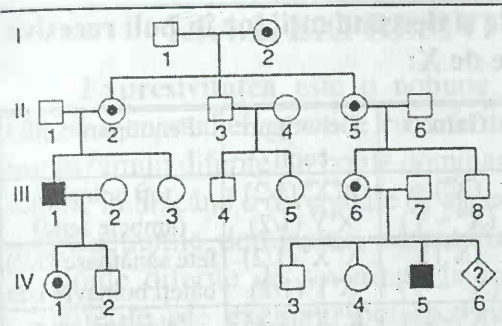


Figura XI.4. Arbore genealogic într-o boală recesivă legată de cromosomul X

- Transmiterea se face de obicei prin femei sănătoase, dar purtătoare de mutație, la fiii lor – **transmitere genealogică oblică;**
- Doi părinți sănătoşi pot avea copii bolnavi, exclusiv băieți;
- Bărbații sănătoşi (X^NY) au toate fiicele sănătoase, întrucât moştenesc cromosomul X patern, purtător al alelei normale dominante;
- Femeile bolnave (homozigote X^aX^a) nu pot avea fii sănătoşi, deoarece băieții moştenesc unicul cromosom X de la mama lor;
- Riscul de recurență a bolii în fratria unui băiat bolnav cu o boală recesivă legată de X este de 25% (când părinții sunt sănătoşi). (tabelul XI.10.).

Tabelul XI.10. Tabelul Punett pentru calculul riscului de recurență în fratria unui bolnav cu o boală recesivă legată de cromosomul X

		Mama	
		X^N	X^a
Tatăl	X^N	X^NX^N	X^NX^a
	Y	X^NY	X^aY

În tabelul XI.11. sunt prezentate modul de transmitere a genelor în bolile recesive legate de cromosomul X dependent de genotipurile parentale.

XI.4. MANIFESTĂRI VARIABILE ALE MUTAȚIILOR GENICE

Toretic, transmiterea monogenică este cel mai simplu mod de transmitere, astfel încât când este regulată poate fi recunoscută uşor într-un arbore genealogic. În realitate există numeroase dificultăți de diagnostic şi evaluare a riscului de recurență. Acestea derivă din variabilitatea care caracterizează expresia fenotipică a mutațiilor. Variațiile în expresia genelor sunt determinate de interrelațiile genice şi de influența unor factori de mediu. Principalele fenomene care modifică transmiterea mendeleană sunt: penetranța incompletă, expresivitatea variabilă, specificitatea de organ, pleiotropia, eterogenitatea genetică şi consanguinitatea.

Tabelul XI.11. Cuplurile parentale şi descendenţii lor în boli recesive legate de X:

Încrucişări parentale	Genotipuri parentale	Gameţi	Genotipuri copii	Fenotipuri copii
Ambii părinţi sunt bolnavi	$X^aX^a + X^aY$	(X^a) x $(X^a + Y)$	X^aX^a (1/2) X^aY (1/2)	toţi bolnavi (ambele sexe)
Mama bolnavă şi tatăl sănătos	$X^aX^a + X^NY$	(X^a) x $(X^N + Y)$	X^NX^a (1/2) X^aY (1/2)	fete sănătoase (1/2) băieţi bolnavi (1/2)
Mama sănătoasă (purtătoare) şi tatăl sănătos	$X^NX^a + X^NY$	(X^a+X^N) x $(X^N + Y)$	X^NX^a (1/4) X^NX^N (1/4) X^aY (1/4) X^NY (1/4)	fete sănătoase (1/2 purtătoare) băieţi bolnavi (1/2) băieţi sănatoşi (1/2)
Mama sănătoasă (purtătoare) şi tatăl bolnav	$X^NX^a + X^aY$	(X^a+X^N) x $(X^a + Y)$	X^aX^a (1/4) X^NX^a (1/4) X^aY (1/4) X^NY (1/4)	fete bolnave (1/2) fete sănătoase (1/2) băieţi bolnavi (1/2) băieţi sănătoşi (1/2)
Mama sanătoasă (homozigotă) şi tatăl bolnav	$X^NX^N + X^aY$	(X^N) x $(X^a + Y)$	X^NX^a (1/2) X^NY (1/2)	fete sănatoase (purtătoare) băieţi sănătoşi
Ambii părinţi sănătoşi	$X^NX^N + X^NY$	(X^N) x $(X^N + Y)$	X^NX^N 1/2) X^NY (1/2)	fete sănătoase băieţi sănătoşi

XI.4.1. PENETRANŢA INCOMPLETĂ

Penetranţa este o noţiune cantitativă evidentă în **bolile dominante**, definită prin frecvenţa manifestării genei mutante (numărul bolnavilor), în raport cu numărul total de purtători ai genei anormale (homozigoţi AA şi heterozigoţi An)[91].

În unele boli dominant autosomale unii heterozigoţi (An) sunt aparent sănătoşi, gena „A" nefiind manifestă, situaţie caracteristică penetranţei incomplete. Totuşi, aceşti indivizi heterozigoţi aparent sănătoşi, pot avea descendenţi (An) la care boala se manifestă complet. Apare astfel o **transmitere dominantă neregulată**, similară în anumite privinţe transmiterii recesive (doi părinţi sănătoşi pot avea copii bolnavi sau transmitere genealogică discontinuă).

În afecţiunile cu penetranţă incompletă riscurile de recurenţă sunt dificil de evaluat, deoarece un individ aparent sănătos heterozigot poate transmite mutaţia la copii, care, însă, pot manifesta boala. În astfel de afecţiuni, la riscul obţinut pe baza legilor lui Mendel se înmulţeşte valoarea penetranţei incomplete, rezultând un risc mai mic decât cel teoretic pentru o boală dominantă.

[91] Vezi capitolul „*Gena unitate de structură şi funcţie*"

XI.4.2. EXPRESIVITATEA VARIABILĂ

Expresivitatea este o noțiune cantitativă, care definește manifestarea clinică a anomaliei genetice cu diferite grade de intensitate, în aceeași familie sau în familii diferite. În bolile dominante expresivitatea variabilă este aproape o regulă, îmbrăcând o diversitate de aspecte:

- Afecțiunile dominante, caracterizate prin anomalii unice, pot prezenta grade diferite de severitate la membrii aceleiași familii sau în familii diferite (de exemplu polidactilia poate fi prezentă la indivizi afectați unilateral, bilateral, la mâini, la picioare sau la toate membrele).
- În unele boli dominante, persoanele afectate pot avea fie forme *tipice* ale bolii, fie forme *incomplete*, variabile, care pot fi chiar *fruste*, cu manifestări reduse, subclinice. Acest aspect este întâlnit în bolile dominante determinate de gene anormale cu efect multiplu (pleiotrope) (de exemplu sindromul Marfan[92]). Recunoașterea cazurilor cu manifestări reduse nu este întotdeauna ușor de realizat, dar este esențială pentru managementul afecțiunii și acordarea sfatului genetic.
- Expresivitatea variabilă poate fi corelată și cu *vârsta de debut a bolii*. Aceasta este determinată de fenomenul ***anticipației***. *Anticipația constă în manifestarea bolii la vârste din ce în ce mai tinere în generații succesive* (de exemplu coreea Huntington[93]). Substratul anticipației este mutațiile „**dinamice**", care constau în amplificarea, în cursul meiozei, a unei secvențe trinucleotidice repetitive. Creșterea numărului de repetiții, în succesiunea generațiilor, duce la efecte celulare din ce în ce mai grave, care se manifestă clinic precoce.
- *Predominanța sau limitarea la unul dintre sexe* apare în unele boli dominant autosomale. De exemplu hemocromatoza are o frecvență de zece ori mai mare la bărbați decât la femei, explicația fiind aportul alimentar mai redus în fier și pierderile menstruale prezente la femei. Alte exemple de boli predominante la bărbați sunt: guta, calvița frontală, în timp ce aplazia emailului dentar sau căderea precoce a dinților sunt întâlnite mai frecvent la femei. Limitarea la un sex survine atunci când organul țintă este prezent doar la unul dintre cele două sexe (de exemplu, sindromul Morris se manifestă clinic doar la subiecții de sex masculin).

XI.4.3. SPECIFICITATEA DE ORGAN

Specificitatea de organ este o noțiune calitativă care caracterizează tipul și localizarea efectelor fenotipice ale genei mutante. Fenomenul este

---

[92] Vezi capitolul „*Gena unitate de structură și funcție*"
[93] Vezi capitolul „*Variabilitatea genetică*"

depistat în boli dominante care afectează mai multe organe sau ţesuturi. De exemplu, în boala Rendu-Osler (angiomatoza hemoragică ereditară) apar hemoragii în diferite organe prin ruperea unor hemangioame, deşi mutaţia este prezentă în toate celulele organismului.

XI.4.4. PLEIOTROPIA

Pleiotropia este fenomenul caracterizat prin efecte fenotipice distincte în ţesuturi diferite, datorite aceleiaşi mutaţii[94]. Un exemplu este sindromul Marfan, în care o mutaţie dominantă la nivelul genei fibrilinei poate produce anomalii *scheletice, oculare* şi *cardiovasculare.* Dezvoltarea geneticii moleculare a permis explicarea efectelor pleiotrope ale mutaţiilor genice, pe baza localizării expresiei proteinei codificate de gena respectivă.

XI.4.5. ETEROGENITATEA GENETICĂ

Eterogenitatea genetică este fenomenul caracterizat prin apariţia unor *consecinţe fenotipice identice sau similare* generate de mutaţii diferite în aceeaşi genă (eterogenitate alelică) sau în gene diferite (eterogenitate de locus)[95].

Un exemplu de *eterogenitate alelică* apare în mucoviscidoză, boală recesivă autosomală, în care au fost identificate peste 700 de mutaţii în gena canalului transmembranar pentru ionul de clor (CFTR).

Eterogenitatea de locus a fost identificată, de exemplu, în retinopatia pigmentară, care se poate transmite autosomal dominant sau recesiv, sau chiar legat de cromosomul X.

În bolile cu eterogenitate genetică, diagnosticul clinic al afecţiunii nu este suficient pentru evaluarea riscului de recurenţă, fiind necesară stabilirea tipului de transmitere în arborele genealogic al familiei.

XI.4.6. CONSANGUINITATEA

Căsătoriile consanguine (între persoane înrudite, care au un fond comun de gene, moştenite de la strămoşul comun) cresc probabilitatea ca descendenţii să moştenească aceeaşi mutaţie genică recesivă şi să fie homozigoţi afectaţi. În condiţiile în care fiecare individ are cel puţin 3-4 gene recesive, la prima sarcină a unui cuplu consanguin există probabilitatea ca embrionul să aibă o boală recesivă gravă, chiar dacă aceasta nu este manifestă în familie[96].

---

[94] Vezi capitolul „*Gena unitate de structură şi funcţie*"
[95] Vezi capitolul „*Gena unitate de structură şi funcţie*"
[96] Vezi capitolul „*Variabilitatea genetică*"

Probabilitatea copilului provenit dintr-un cuplu consanguin de a fi homozigot (afectat) pentru o genă la nivelul unui locus specific, moştenită de la genitorul comun al cuplului parental, este denumită **coeficient de consanguinitate (F).** Coeficientul de consanguinitate este diferit de **coeficientul de înrudire (R)** *care se referă la membrii cuplului consanguin, indicând proporţia medie de gene pe care aceştia le au în comun, ca urmare a faptului că au un strămoş comun* (tabelul XI.12.).

Tabelul XI.12. Coeficienţii de înrudire, consanguinitate şi riscul pentru boli recesiv autosomale în uniuni consanguine

Cuplul consanguin	Coeficient de înrudire (R)	Coeficient de consanguinitate (F)	Risc
Fraţi	1/2	1/4	1/8
Fraţi vitregi	1/4	1/8	1/16
Unchi – nepoată de frate Mătuşă – nepot de frate	1/4	1/8	1/16
Veri primari	1/8	1/16	1/32
Unchi – nepoată de văr Mătuşă – nepot de văr	1/16	1/32	1/64
Veri de gradul II	1/32	1/64	1/128
Veri primari dubli	1/4	1/8	1/16
Veri de gradul II dubli	1/16	1/16	1/64

La modul general, probabilitatea ca un copil născut din părinţi consanguini să aibă o boală recesivă autosomală este (F/2) x n, unde n reprezintă numărul de alele recesive ale fiecărui genitor (strămoş) comun.

XI.5. BOLILE MOLECULARE

Bolile monogenice reprezintă o componentă importantă a patologiei genetice, deoarece, pe de o parte au un impact major asupra morbidităţii şi mortalităţii umane, iar pe de altă parte numărul lor este foarte mare şi interesează toate categoriile de aparate şi sisteme ale organismului.

Bolile monogenice considerate individual sunt rare, dar luate în ansamblu au o incidenţă la nou-născut de aproximativ 3%. În plus, afecţiunile monogenice sunt grave, având o pondere importantă în patologia infantilă.

Pentru unele maladii monogenice se cunoaşte întregul mecanism patogenic, începând cu mutaţia care determină afecţiunea şi terminând cu modificările induse de această mutaţie la nivelul unor organe sau a întregului organism. Aceste boli monogenice sunt numite **boli moleculare.** La ora actuală sunt cunoscute mai mult de 2000 de afecţiuni moleculare, dar valoarea creşte continuu prin integrarea metodelor de genetică moleculară în studiul maladiilor monogenice.

Studiul bolilor moleculare a relevat existenţa mai multor tipuri de efecte ale mutaţiilor genice asupra fenotipului:

- *mutaţii cu pierderea funcţiei;*
- *mutaţii cu câştig de funcţie;*
- *mutaţii cu dobândirea de funcţii noi;*
- *mutaţii cu expresie genică ectopică sau heterocronică.*

Mutaţiile care determină pierderea funcţiei cauzează cele mai numeroase boli monogenice. Ele sunt reprezentate de deleţii sau inserţii care generează modificarea cadrului de lectură (mutaţii *"frameshift"*) respectiv substituţii nucleotidice ce determină mutaţii nonsens (sinteza unei proteine trunchiate) sau mutaţii cu sens greşit (mutaţii *"missens"*– determină înlocuirea unui aminoacid cu un alt aminoacid în secvenţa proteică).

De cele mai multe ori mutaţiile cu pierdere de funcţie determină boli cu transmitere recesivă, iar la persoanele heterozigote (Na sau X^NX^a) gena funcţionează la 50% din capacitatea maximă, dar asigură o cantitate suficientă de proteină (enzimă) pentru o viaţă normală. În puţine situaţii, mutaţiile cu pierdere de funcţie prezintă o transmitere de tip dominant, asociată cu fenomenul de *haploinsuficienţă*, caracterizat prin formarea unei cantităţi insuficiente de proteină când gena funcţionează la 50% din normal. O altă excepţie de la transmiterea recesivă se întâlneşte în cazul mutaţiilor genelor ce codifică peptide care fac parte din complexe multimerice. În aceste cazuri este perturbată şi formarea a altor proteine, apărând fenomenul de *dominanţă negativă*[97].

Mutaţiile cu câştig de funcţie sunt mult mai puţin frecvente şi, de regulă, au o transmitere de tip dominant. Ele pot genera creşterea nivelului de sinteză a proteinei[98] sau intensifică funcţia proteinei normale[99].

Mutaţiile ce determină o modificare a funcţiei proteinei codificate sunt rare şi de obicei au o transmitere de tip recesiv. Un exemplu îl constituie mutaţia genei β-globinei ce cauzează sicklemia[100]. În acest caz, hemoglobina S caracteristică mutaţiei dobândeşte proprietatea de a precipita la concentraţii reduse ale oxigenului (în micorcirculaţie) ceea ce conduce la modificările patogenice specifice drepanocitozei.

---

[97] De exemplu, un efect de dominanţă negativă a fost observat în osteogenesis imperfecta în care mutaţiile genelor COL1A1 şi COL1A2 afectează modelul de asamblare a fibrelor de colagen.

[98] De exemplu, în boala Charcot-Marie-Tooth de tip I există o hiperexpresie genică secundară duplicaţiei genei PMP22;

[99] De exemplu, în acondroplazie mutaţia de tip GGG→ AGG la nivelul codonului 380 al genei receptorului FGFR3 generează o expresie genică perpetuă;

[100] Vezi capitolul III. „Gena unitate de structură, funcţie şi mutaţie"

Mutațiile caracterizate prin expresie ectopică sau temporală inadecvată sunt foarte rare şi de regulă reprezintă consecința unor modificări la nivelul regiunii reglatoare a unei gene. Un exemplu de mutație ce determină o expresie ectopică apare în majoritatea cancerelor rezultate prin mutații activatoare ale unor protooncogene. O expresie temporală inadecvată a fost identificată în unele hemoglobinopatii caracterizate prin persistența hemoglobinei fetale, generată de menținerea activă postnatal a genei γ-globinei.

Clasificarea bolilor moleculare este dificilă în condițiile în care, pe de o parte pot exista mai multe tipuri de mutație la nivelul aceleiaşi gene, iar pe de altă parte produsul funcțional al genei poate interveni în mai multe produse metabolice. Deşi nu există un consens general referitor la clasificarea bolilor metabolice, cea mai bună cale de împărțire a acestor afecțiuni este în raport cu acțiunea proteinei codificate de gena mutantă.

Genele care codifică proteine pot fi grupate în două categorii: *gene ubicuitare* (care sunt exprimate în toate țesuturile şi au de regulă o expresie lentă continuă) şi *gene cu specificitate tisulară* (care sunt exprimate numai într-un anumit țesut, unde au o expresie intensă). Mutațiile genelor ubicuitare rareori produc boli moleculare, deoarece absența produsului funcțional este incompatibilă cu supraviețuirea.

Pe de altă parte, mutațiile genelor cu specificitate tisulară determină un fenotip particular, generat de deficitul major funcțional.

În raport, cu tipul de deficit funcțional, bolile moleculare pot fi împărțite în: defecte enzimatice, defecte de transport şi de stocaj, defecte ale proteinelor structurale, defecte ale proteinelor implicate în homeostazia organismului; defecte ale proteinelor implicate în expresia genică, defecte ale proteinelor implicate în dezvoltare, defecte ale proteinelor implicate în metabolismul şi comunicarea intercelulară (tabelul XI.13.).

XI.5.1. DEFICITE ENZIMATICE

Deficitele enzimatice sau erorile înnăscute de metabolism constituie un grup mare de afecțiuni ce interesează practic toate metabolismele, deoarece toate reacțiile biochimice din organism sunt catalizate de enzime.

Deficitele enzimatice interesează cel puțin 350 de enzime, dar numărul lor ar putea ajunge la 3000 în momentul în care se vor cunoaşte defectele metabolice în bolile monogenice în care mecanismul patogenic nu este complet elucidat.

În majoritatea cazurilor, deficitele enzimatice au o transmitere de tip recesivă (autosomală sau legată de cromosomul X). Această particularitate poate fi explicată de faptul că majoritatea enzimelor normale au o activitate catalitică mai mare decât necesitățile fiziologice ale organismului.

Tabelul XI.13. Exemple de clase de proteine implicate în boli moleculare

Clasa proteică	Proteină/Boala	Tip de transmitere
Enzimă		
- Met. Aminoacizilor	Fenilalanilhidroxilaza (fenilcetonurie)	RA
- Met. Glucidic	Galactozo-1-fosfat uridil transferaza (galactozemie)	RA
- Met. Lipidic	Acil-CoA dehidrogenaza acizilor graşi cu lanţ mediu (MCAD – *Medium Chain Acyl-CoA dehidrogenase Deficiency)*	RA
- Met. Lipide complexe	Sfingomielinaza (boala Niemann-Pick)	RA
- Met. Purinelor	Hipoxantin-guanin-fosforibozil transferaza (boala Lesch-Nyhan)	RX
- Met. Porfirinelor;	Protoporfirinogen oxidaza (porfiria *variegata*)	DA
Transport şi stocaj		
- Interorgane	Hemoglobina (hemoglobinopatii)	RA
- Intracelular	Proteina de transport a cuprului (sindromul Menkes)	RX
- Transmembranar	Canal transmembranar pentru Cl^- (fibroza chistică)	RA
Structură		
- Structuri extracelulare	Colagen tip I şi II (*osteogenesis imperfecta)*	DA, RA
- Membrana celulară	Spectrina eritrocitară (sferocitoza ereditară)	DA
- Organite celulare	PEX1 (sindromul Zellweger)	RA
Controlul homeostaziei		
- Imunitare	Elemente ale sistemului complement (infecţii)	DA, RA
- Hemostază	Factorul de coagulare IX (hemofilie B)	RX
- Inhibitor al proteazelor	α_1-antitripsina (deficienţă de α_1-antitripsină)	RA
Controlul expresiei genice		
- Factori de transcripţie	PAX 3 (sindrom Waardenburg tip I)	DA
- Molecule semnal	*Sonic hedghehog* (holoprozencefalie)	DA
Controlul dezvoltării		
- Supresor tumoral	Rb (retinoblastom)	RA
- Oncogenă	Receptorul Ret (neoplazia endocrină multiplă 2)	DA
Metabolism şi comunicare intercelulară		
- Conectori celulari	Conexina 26 (surditate non-sindromică)	RA
- Receptori	Receptorul pentru lipoproteinele cu densitate joasă (hipercolesterolemia familială)	DA
	Opsine (daltonismul)	RX
	Receptorul pentru androgeni (testicul feminizant)	RX
- Hormoni	Hormon de creştere STH (nanism hipofizar)	RA
- Transductori	Proteina GNAS (osteodistrofia ereditară Albright)	RX

Efectele blocului metabolic pot fi diferite (figura XI.5.):

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

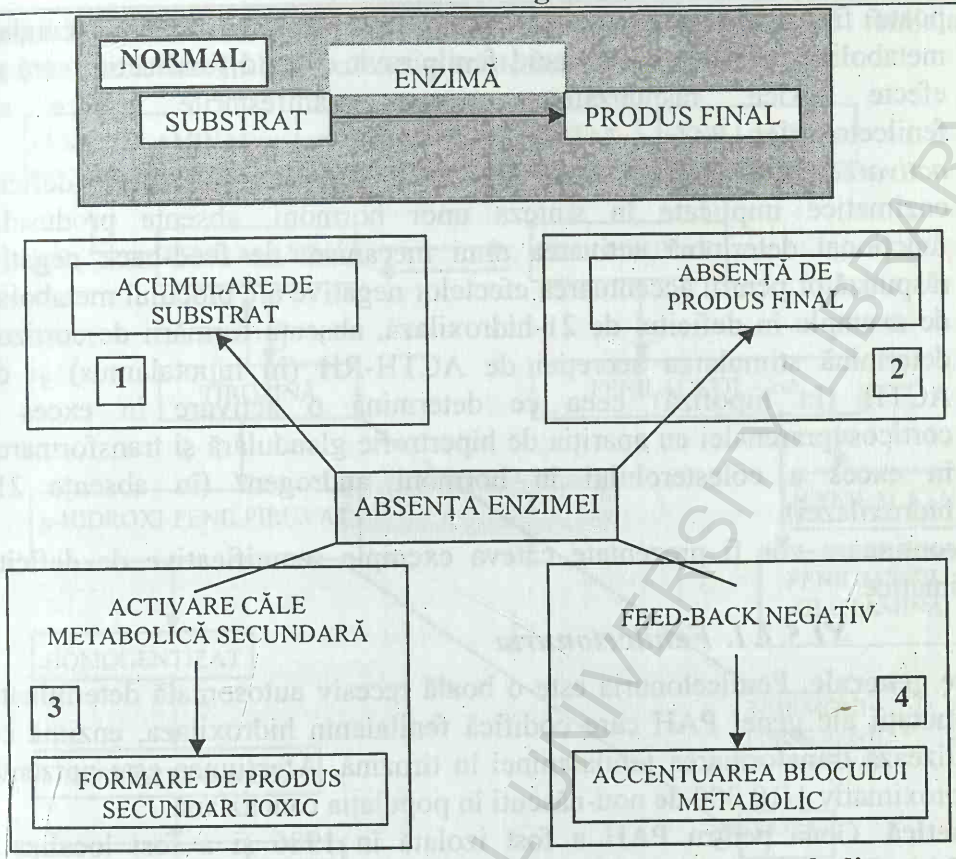


Figura XI.5. Efectele posibile ale unui bloc metabolic

- *acumularea substratului* – absența enzimei nu permite metabolizarea produsului primar al reacției și acumularea acestuia; în cazul când substratul este o moleculă de dimensiuni mici, difuzibilă, ea trece în sânge și produce efecte negative în majoritatea țesuturilor (de exemplu, acumularea de galactoză în deficitul de galactozo-1-fosfat uridil transferază); în schimb, în situațiile în care substratul este o macromoleculă, acesta se acumulează și determină efecte nocive la nivelul țesutului unde se formează (de exemplu acumularea de glicozaminoglicani în mucopolizaharidoze);
- *absența produsului final de metabolism* – efectele negative ale blocului metabolic sunt secundare absenței substanței metabolizate de enzima implicată; de exemplu, deficitul de tirozinază determină absența transformării tirozinei în melanină cu apariția albinismului oculo-cutanat;
- *metabolizarea secundară a produsului primar al reacției* – în anumite blocuri enzimatice, în absența enzimei, se activează căi secundare de metabolism, care uneori determină formarea de produși metabolici toxici; de exemplu, în absența fenilalanil-hidroxilazei, fenilalanina nu

poate fi transformată în tirozină şi este activată o cale secundară metabolică cu formarea de acid fenilpiruvic şi acid fenillactic, care au efecte toxice, răspunzătoare pentru manifestările clinice ale fenilcetonuriei;

- *activarea unui mecanism de feed-back negativ* – în unele deficite enzimatice implicate în sinteza unor hormoni, absența produsului funcțional determină activarea unui mecanism de feed-back negativ, răspunzător pentru accentuarea efectelor negative ale blocului metabolic; de exemplu în deficitul de 21-hidroxilază, absența formării de cortizol, determină stimularea secreției de ACTH-RH (în hipotalamus) şi de ACTH (în hipofiză) ceea ce determină o activare în exces a corticosuprarenalei cu apariția de hipertrofie glandulară şi transformarea în exces a colesterolului în hormoni androgeni (în absența 21-hidroxilazei).

În continuare vor fi prezentate câteva exemple semnificative de deficite enzimatice

XI.5.1.1. Fenilcetonuria

Date generale. Fenilcetonuria este o boală recesiv autosomală determinată de mutații ale genei PAH care codifică fenilalanin hidroxilaza, enzimă ce catalizează transformarea fenilalaninei în tirozină. Afecțiunea este prezentă la aproximativ 1/10.000 de nou-născuti în populația caucaziană.

Genetică. Gena pentru PAH a fost izolată în 1986 şi a fost localizată 12q24.1. Există o mare eterogenitate alelică la indivizii bolnavi, exprimată prin depistarea a peste 400 de mutații. Dintre acestea, 6 sunt frecvente, fiind responsabile pentru 2/3 din cazurile de fenilcetonurie. Datorită eterogenității mutaționale, cei mai mulți bolnavi sunt heterozigoți compuşi, existând o variabilitate a nivelurilor reziduale ale activității enzimatice.

Mecanism patogenic. Deficitul de fenilalanil-hidroxilază blochează transformarea fenilalaninei (un aminoacid esențial) în tirozină şi acumularea în organism a substratului, cu apariția hiperfenilalaninemiei. În absența enzimei, se activează o cale secundară de metabolizare cu formarea de acid fenilpiruvic şi, ulterior de acid fenillactic şi fenilacetic (figura XI.6.) care au efecte toxice la nivelul sistemului nervos central.

Blocul metabolic determină şi o serie de efecte secundare, precum scăderea formării de melanină (cu hipopigmentația pielii, mucoaselor şi părului) sau reducerea producerii de dopamină (cu apariția convulsiilor).

Efectele negative ale blocului metabolic pot fi limitate prin excluderea fenilalaninei din alimentație. Totuşi, nu toate cazurile de hiperfenilalaninemie răspund la dieta restricționată la fenilalanină. În aceste situații, nu există mutații la nivelul genei PAH, ci ale genelor unor enzime

implicate în metabolismul tetrahidrobiopterinei, cofactor al fenilalanil-hidroxilazei, tirozin-hidroxilazei şi triptofan-hidroxilazei.

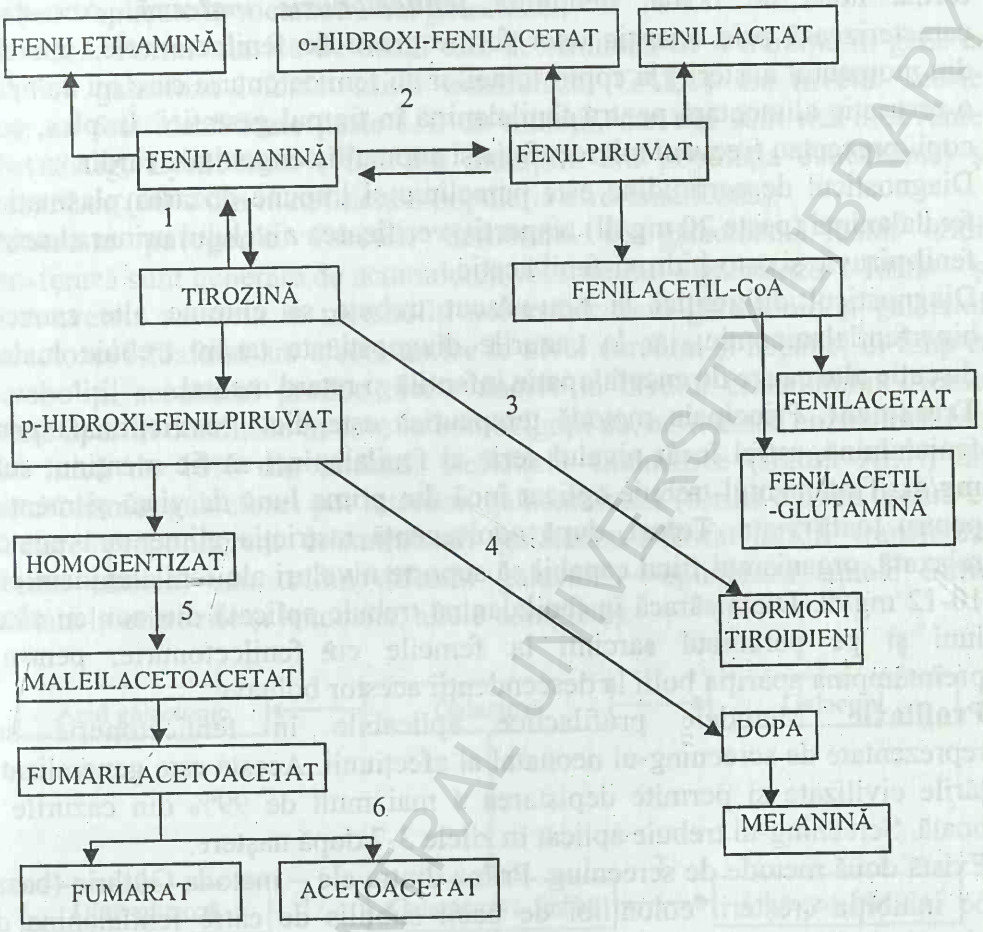


Figura IX.6. Metabolismul fenilalaninei şi deficite enzimatice posibile

1 – fenilalanil- hidroxilază – **fenilcetonurie**; 2 – fenilalanil-transaminază; 3 – tiroid-peroxidază – **hipotiroidie;** 4 – tirozinază – **albinism oculocutanat**; 5 – oxidaza acidului homogentizic – **alcaptonurie**; 6 – hidrolaza acidului fumarilacetoacetic – **tirozinemie I**

Diagnostic. Manifestările clinice apar după primul trimestru de viaţă, ca urmare a aportului de fenilalanină în laptele matern. Singurele indicii clinice la nou-născut sunt hipopigmentaţia cutanată, asociată cu părul blond şi culoarea albastră a ochilor.

Ulterior în formele netratate, apar tulburările neurologice (anomalii de mers, postură şi şedere), retard somatic şi retard mintal (de obicei sever). În plus, pot fi depistate un miros anormal al urinei ("de şoarece") crize comiţiale şi o dermatită eczematiformă.

Introducerea în anii '70 ai secolului trecut a screeningului neonatal în

fenilcetonurie, a permis depistarea şi tratarea a majorităţii cazurilor de boală. Aceşti bolnavi au ajuns la vârsta reproductivă, iar studiile clinice au relevat o formă nouă de boală, denumită ***fenilcetonurie maternă***. Aceasta se caracterizează prin apariţia unor forme grave de fenilcetonurie (manifeste din momentul naşterii) la copiii femeilor cu fenilcetonurie care nu au aplicat o restricţie alimentară pentru fenilalanină în timpul gestaţiei. În plus, aceşti copii prezentau frecvent microcefalie şi anomalii congenitale cardiace.

Diagnosticul de certitudine este paraclinic şi impune dozarea plasmatică a fenilalaninei (peste 20 mg/dl) respectiv verificarea nivelului urinar al acizilor fenil-piruvic şi orto-hidroxi-fenil acetic.

Diagnosticul diferenţial la nou-născut trebuie să elimine alte cauze de hiperfenilalaninemie, iar la cazurile diagnosticate tardiv trebuie luate în discuţie alte cauze de encefalopatie infantilă şi retard mental.

Tratament. Principala metodă terapeutică este dieta restricţionată pentru fenialalnină, astfel încât nivelul seric al fenilalaninei să fie menţinut sub 6 mg/dl. Tratamentul trebuie aplicat încă din prima lună de viaţă şi menţinut pentru toată viaţa. Totuşi, după adolescenţă restricţia alimentară poate fi relaxată, organismul fiind capabil să suporte niveluri ale fenilalaninemiei de 10-12 mg/dl. Dieta săracă în fenilalanină trebuie aplicată din nou cu câteva luni şi pe parcursul sarcinii la femeile cu fenilcetonurie, pentru a preîntâmpina apariţia bolii la descendenţii acestor bolnave.

Profilaxie. Metodele profilactice aplicabile în fenilcetonurie sunt reprezentate de screening-ul neonatal al afecţiunii. Acesta este generalizat în ţările civilizate şi permite depistarea a mai mult de 99% din cazurile de boală. Screening-ul trebuie aplicat în zilele 3-7 după naştere.

Există două metode de screening. Prima dintre ele – metoda Güthrie (bazată pe inhibiţia creşterii coloniilor de bacil subtilis de către fenilalanina din sânge) – determină apariţia a numeroase rezultate fals pozitive sau fals negative. Aceasta a fost înlocuită în ultimii ani de teste fluorimetrice de detecţie a nivelului fenilalaninei sanguine, care sunt mult mai exacte şi permit stabilirea diagnosticului în aproximativ 99,9% din cazuri.

Prognosticul. La pacienţii diagnosticaţi în perioada neonatală şi care urmează un tratament corect prognosticul este favorabil, bolnavii având o viaţă cvasi-normală.

Un factor negativ de prognostic apare la copiii femeilor cu fenilcetonurie la care nivelul fenilalaninemiei nu este menţinut sub nivelul de 6 mg/dl cel puţin câteva luni înainte de concepţie şi pe tot parcursul sarcinii.

XI.5.1.2. Galactozemia

Date generale. Galactozemia este cea mai frecventă enzimopatie ce afectează metabolismul zaharidelor. Maladia are o incidenţă de 1/55.000 de

nou-născuți și prezintă o transmitere de tip recesiv autosomal. Există mai multe forme clinice de boală, generate de mutații ale genelor diferitelor enzime implicate în metabolismul galactozei.

Genetică. Forma clasică de boală este determinată de o mutație în gena ce codifică galactozo-1-fosfat uridil transferaza (GALT). La nivelul acestei gene au fost identificate peste 150 de mutații, dar trei sunt mai frecvente: Gln188Arg, Lys258Asn (70% din mutațiile din populația caucaziană) și Ser135Leu (60% din mutațiile din populația afro-americană).

Mecanism patogenic. Efectele deficitului de galactozo-1-fosfat uridil transferază sunt generate de acumularea substratului – galactozo-1-fosfat – și de conversia acesteia în metaboliți secundari: acid galactonic și galactiol. Galactozo-1-fosfatul are efecte toxice la nivel cerebral și hepatic, în timp ce metaboliții secundari produc efecte nocive la nivelul cristalinului. Aceste efecte apar în condițiile în care la homozigoții aa, activitatea enzimatică este mai mică de 10% din normal. Deficitele enzimatice (figura XI.7.) din metabolismul galactozei pot interesa: galactokinaza (formă clinică ușoară cu afectare preponderent cristaliniană) galactozo-1-fosfat uridil transferaza (forma clasică) sau uridin difosfat galactozo-4-epimeraza (unele forme limitate la eritrocite și leucocite, altele complete).

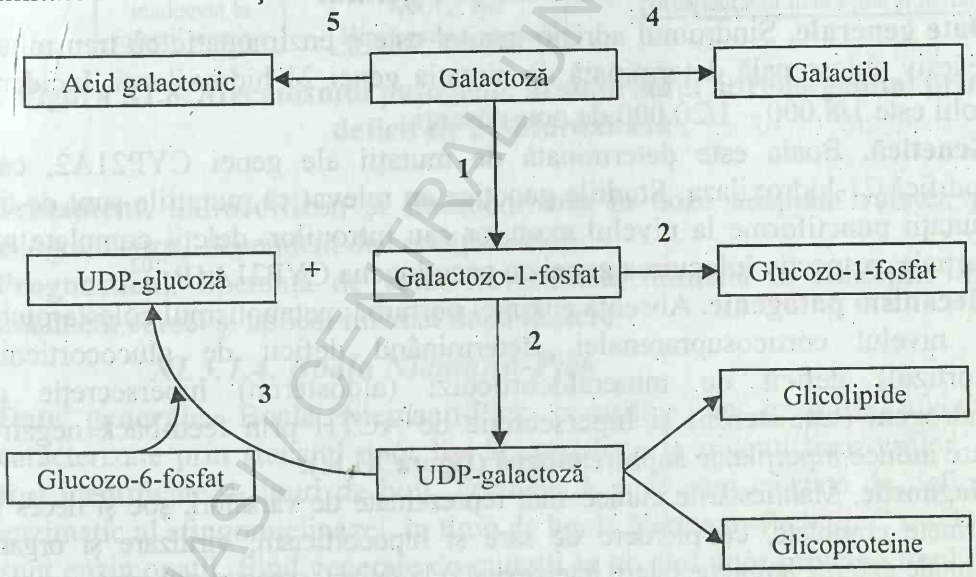


Figura XI.7. Metabolismul galactozei

1 – galactokinază; 2 - galactozo-1-fosfat uridil transferază; 3 - uridin difosfat galactozo-4-epimeraza; 4 – aldolază; 5 - oxidază

Diagnostic. Manifestările clinice ale galactozemiei devin evidente în perioada de sugar, ca urmare a alimentației lactate. Primele simptome sunt reprezentate de vărsături și dificultăți de hrănire. Ulterior se instalează

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

deficitul de creştere, deficitul de dezvoltare neuro-psihică, retardul mental, cataracta şi semnele de ciroză hepatică (hepatomegalie, icter prelungit) [101]. Diagnosticul de certitudine este asigurat de teste biochimice care indică valori crescute ale galactozuriei şi galactozemiei, dar mai ales prin evidenţierea unei activităţi scăzute a GALT.

Tratament. Principala măsură terapeutică o reprezintă îndepărtarea galactozei şi a lactozei din alimentaţie, iniţial prin folosirea unor formule speciale de lapte praf, iar ulterior prin evitarea produselor lactate.

Profilaxie. Principala măsură de profilaxie constă în screening-ul neonatal al galactozemiei. Acesta se bazează pe determinarea activităţii GALT într-o picătură uscată de sânge, recoltat prin puncţie capilară. La copiii cu deficit enzimatic se impune aplicarea de urgenţă a măsurilor terapeutice.

Prognosticul. La pacienţii netrataţi evoluţia bolii este severă cu insuficienţă hepatică, retard mental şi cataractă. Prin aplicarea precoce a tratamentului indivizii afectaţi pot avea o viaţă cvasinormală, deşi pe termen lung se citează un anumit deficit de dezvoltare intelectuală. De asemenea, la pacientele cu galactozemie tratate a fost relevată sterilitate sau doar hipofertilitate, datorite insuficienţei ovariene secundare efectelor toxice ale galactozei.

XI.5.1.3. Sindromul adreno-genital

Date generale. Sindromul adreno-genital este o enzimopatie cu transmitere recesiv autosomală determinată de mutaţia genei 21-hidroxilazei. Incidenţa bolii este 1/8.000 – 1/20.000 de nou-născuţi.

Genetică. Boala este determinată de mutaţii ale genei CYP21A2, care codifică 21-hidroxilaza. Studiile genetice au relevat că mutaţiile sunt de tip: mutaţii punctiforme la nivelul exonilor sau intronilor, deleţii complete sau parţiale, respectiv înlocuirea genei cu pseudogena CYP21A1P.[102]

Mecanism patogenic. Absenţa enzimei perturbă metabolismul colesterolului la nivelul corticosuprarenalei, determinând deficit de glucocorticoizi (cortizol) deficit de mineralocorticoizi (aldosteron) hipersecreţie de androgeni (testosteron) şi hipersecreţie de ACTH prin feed-back negativ, care induce hiperplazie suprarenaliană (figura XI.8.).

Diagnostic. Manifestările clinice sunt reprezentate de vărsături, şoc şi deces în formele complete, cu pierdere de sare şi hipocorticism; virilizare şi organe genitale externe ambigue (stare intersexuală) la fetiţe, respectiv pubertate precoce şi hipostatură la băieţii afectaţi. Diagnosticul clinic este confirmat de următoarele elemente paraclinice: nivel crescut al cetosteroizilor urinari, al pregnantriolului

[101] Galactoza este principalul monozaharid din lapte

[102] Deleţiile sau înlocuirea cu pseudogena CYP21A1P sunt rezultatul recombinărilor meiotice în regiunea genei CYP21A2

urinar, al 17α-hidroxiprogesteronului seric şi al ACTH-ului seric.

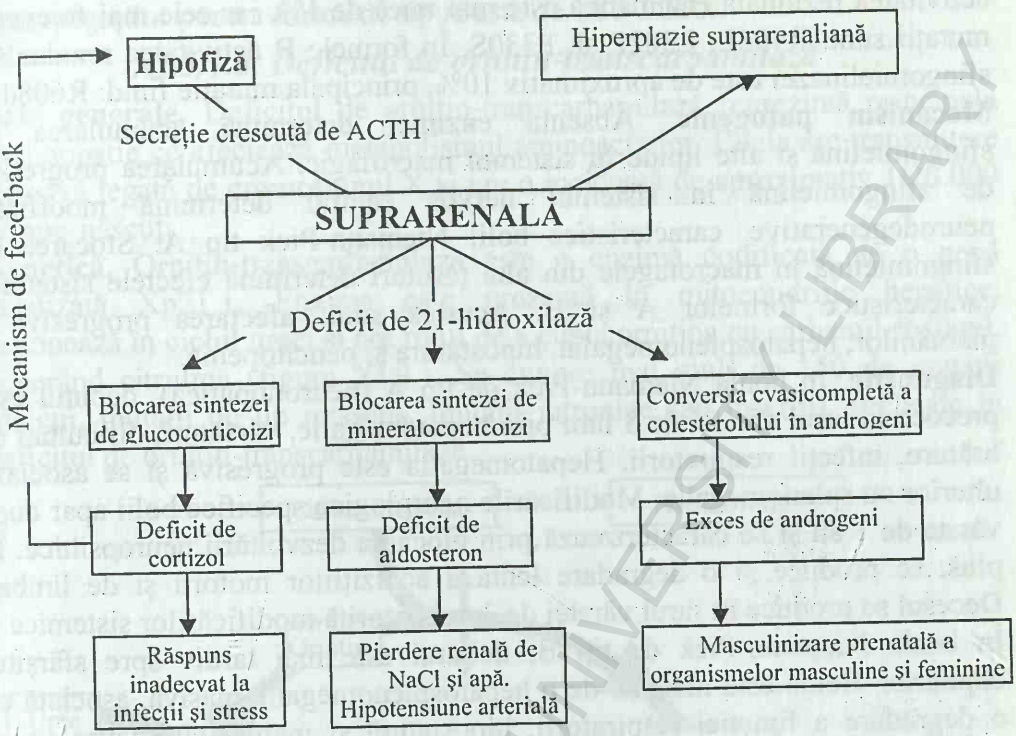


Figura XI.8. Mecanismul patogenic în sindromul adreno-genital prin deficit de 21-hidroxilază

Tratament. hidrocortizon şi fludrocortizon în doze adaptate vârstei, per kilogram corp, dependent de condiţiile vieţii

Prognosticul. Speranţă de viaţă şi fertilitate normală în condiţiile unui tratament corect şi aplicat imediat după naştere.

XI.5.1.4. Boala Niemann-Pick

Date generale. Boala Niemann-Pick constituie un grup de afecţiuni caracterizate prin stocajul unor lipide complexe la nivelul lizozomilor. Au fost identificate 4 tipuri de boli. Formele A şi B sunt cauzate de deficitul enzimatic al sfingomielinazei, în timp de boala Niemann-Pick tip C sau D nu sunt enzimopatii, fiind generate de mutaţii la nivelul unor proteine implicate în transportul colesterolului între organitele celulare. Toate aceste afecţiuni au transmitere recesiv autosomală, iar incidenţa globală este de aproximativ 1/250.000 nou-născuţi.

Genetică. Sfingomielinaza este o enzimă codificată de o genă localizată 11p15.1-p15.4. Se cunosc mai mult de 100 de mutaţii implicate în boala Niemann-Pick tip A sau B, majoritatea fiind de tip substituţii nucleotidice,

cu efect inactivator. În cazul formei A (mai gravă, letală în copilărie) activitatea reziduală enzimatică este mai mică de 1%, iar cele mai frecvente mutaţii sunt: R496L, L302P şi .P330S. În formele B activitatea reziduală a sfingomielinazei este de aproximativ 10%, principala mutaţie fiind: R608del.

Mecanism patogenic. Absenţa enzimei determină acumularea de sfingomielină şi alte lipide în sistemul macrofagic. Acumularea progresivă de sfingomielină în sistemul nervos central determină modificări neurodegenerative, caracteristice bolii Niemann-Pick tip A. Stocarea de sfingomielină în macrofagele din alte ţesuturi determină efectele sistemice caracteristice formelor A şi B. Acestea sunt: afectarea progresivă a plămânilor, hepatosplenomegalia, hipostatura şi pancitopenia.

Diagnostic. În boala Niemann-Pick de tip A (neuronopatică), debutul este precoce în jurul vârstei de 3 luni prin hepatomegalie, vărsături, dificultăţi de hrănire, infecţii respiratorii. Hepatomegalia este progresivă şi se asociază ulterior cu splenomegalie. Modificările neurologice specifice bolii apar după vârsta de 1 an şi se caracterizează prin blocarea dezvoltării neuropsihice. În plus, se produce şi o degradare lentă a achiziţiilor motorii şi de limbaj. Decesul se produce în jurul vârstei de 3 ani datorită modificărilor sistemice.

În boala Niemann-Pick de tip B, debutul este mai tardiv spre sfârşitul copilăriei. Boala este marcată de o hepatosplenomegalie masivă, asociată cu o degradare a funcţiei respiratorii, hipostatură şi manifestări neurologice. Modificările neuropsihice se manifestă prin tulburări de echilibru şi extrapiramidale, retard mental şi tulburări psihotice.

Diagnosticul paraclinic de certitudine se bazează pe estimarea activităţii sfingomielinazei în limfocitele din sângele periferic sau fibroblaştii din piele. În forma de tip A aceasta este mai mică de 1%, în timp ce în forma de tip B activitatea enzimatică este de aproximativ 10% din normal. Alte aspecte de laborator evidente în boala Niemann-Pick tip B sunt: scăderea concentraţiei complexelor HDL-colesterol, concomitent cu niveluri crescute ale trigliceridelor şi a complexelor LDL-colesterol, respectiv trombocitopenie.

Tratament. Nu există tratament specific. În forma B se aplică terapii simptomatice în cazul trombocitopeniei, a afectării pulmonare şi a hiperlipidemiei.

Prognosticul. În boala Niemann-Pick tip A prognosticul este infaust, decesul survenind în jurul vârstei de 3 ani. În boala Niemann-Pick tip B prognosticul este mai puţin modificat, pacienţii cu forme clinice mai puţin severe ajungând la maturitate, fiind posibilă şi procreerea.

Profilaxie. Profilaxia se bazează pe metode de screening al heterozigoţilor în populaţiile care au o incidenţă crescută a bolii, respectiv pe depistarea prenatală a cazurilor de boală la copiii cuplurilor heterozigote. Principalele

populații vizate pentru screening sunt evreii Askenazi, la care frecvența heterozigoților pentru forma de tip A este de 1/80-1/100.

XI.5.1.5. Deficitul de ornitin-transcarbamilază

Date generale. Deficitul de ornitin-transcarbamilază reprezintă principala enzimopatie ce afectează metabolismul aminoacizilor. Boala are transmitere recesivă legată de cromosomul X și are o incidență de aproximativ 1/20.000 de nou-născuți.

Genetică. Ornitin-transcarbamilaza este o enzimă codificată de o genă localizată Xp21.1. Enzima este prezentă în mitocondriile hepatice, acționează în ciclul ureei și are rolul de a cupla ornitina cu carbamil-fosfatul, generând citrulină (figura XI.9.). Se cunosc mai mult de 150 de mutații (deleții, mutații de tip missens, mutații intronice sau inserții) implicate în deficitul de ornitin-transcarbamilază.

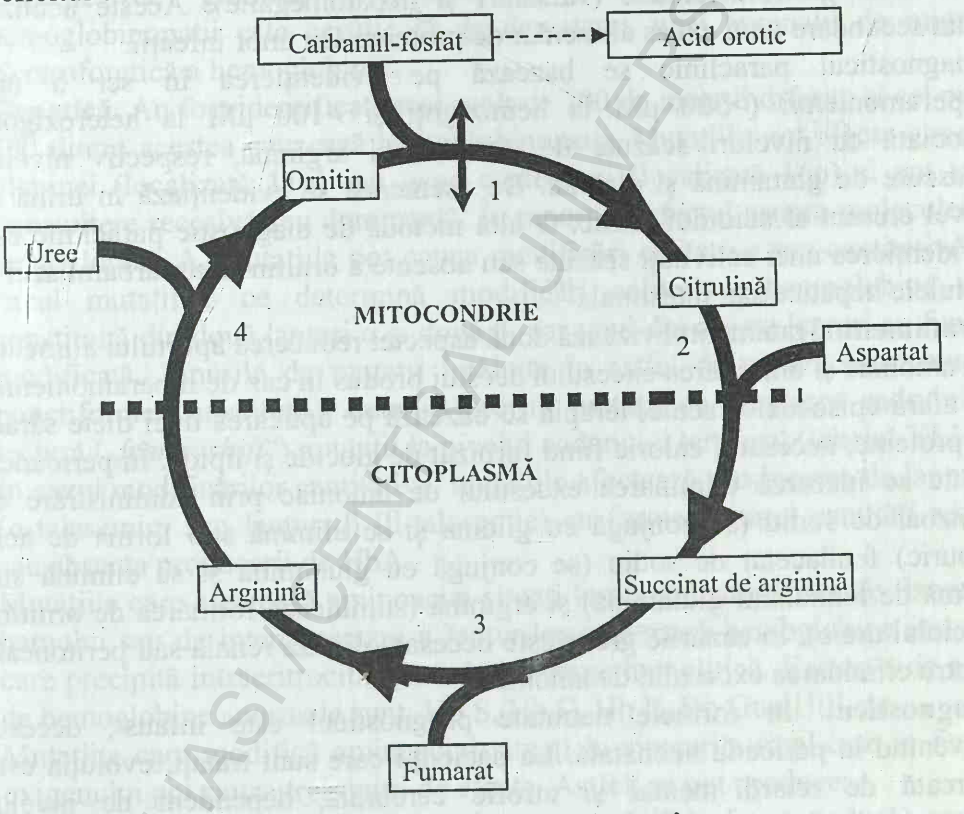


Figura XI.9. Ciclul ureei

1 – ornitin-transcarbamilaza; 2 – argininsuccina-sintetaza;
3 – argininsuccinat-liaza; 4 - arginaza

Mecanism patogenic. Deficitul de ornitin-transcarbamilază limitează excreția de amoniac din organism. Acumularea de amoniac în organism are efecte toxice la nivelul sistemului nervos central. De asemenea, absența

enzimei determină acumularea de carbamil-fosfat, asociată cu absența sau cantități reduse de citrulină. În condițiile în care carbamil-fosfatul nu poate fi încorporat în citrulină el va fi metabolizat secundar la acid orotic care se excretă prin urină.

Diagnostic. Debutul bolii este precoce în perioada neonatală la băieții hemizigoți (X^aY) şi tardiv, uneori în perioada adultă, la fetele hemizigote (X^NX^a). În formele neonatale, debutul este la 24-72 ore după naştere, concomitent cu începerea alimentației lactate. Boala se manifestă prin semne neurologice (hipotonie, letargie, crize convulsive şi în final comă) semne gastrointestinale (vărsături cu sau fără semne de deshidratare, dificultăți de hrănire hepatomegalie) hipotermie, hiperventilație. În formele cu debut tardiv afecțiunea se manifestă prin episoade recurente marcate de fenomene neurologice (cefalee migrenoasă, ataxie, letargie sau hiperactivitate) şi fenomene gastrointestinale (vărsături şi hepatomegalie). Aceste acutizări sunt secundare unui exces alimentar de proteine sau unor infecții.

Diagnosticul paraclinic se bazează pe evidențierea în ser a unei hiperamoniemii (>500 μM la hemizigoți şi >100 μM la heterozigote) asociată cu niveluri scăzute de citrulină şi arginină, respectiv niveluri crescute de glutamină şi alanină. De asemenea se evidențiază în urină un nivel crescut al acidului orotic. O altă metodă de diagnostic paraclinic este evidențierea unei activități scăzute sau absente a ornitin-transcarbamilazei în celulele hepatice sau intestinale[103].

Tratament. Tratamentul vizează două aspecte: reducerea aportului alimentar de amoniac şi eliminarea excesului acestui produs în caz de hiperamoniemie. În afara episoadelor acute, terapia se bazează pe aplicarea unei diete sărace în proteine, necesarul caloric fiind furnizat de glucide şi lipide. În perioadele acute se încearcă eliminarea excesului de amoniac prin administrare de benzoat de sodiu (se conjugă cu glicina şi se elimină sub formă de acid hipuric) fenilacetat de sodiu (se conjugă cu glutamina şi se elimină sub formă de fenilalanil-glutamină) şi arginină (stimulează formarea de ornitină în ciclul ureic). În cazurile grave este necesară dializa renală sau peritoneală pentru eliminarea excesului de amoniac.

Prognosticul. În formele netratate prognosticul este infaust, decesul survenind în perioada neonatală. La pacienții care sunt tratați, evoluția este marcată de retard mental şi atrofie cerebrală, dependent de nivelul hiperamoniemiei şi perioada în care aceasta s-a manifestat. La pacienții la care boala a fost monitorizată din timpul perioadei neonatale şi nu au existat episoade de hiperamoniemie, prognosticul este favorabil, fiind absent retardul mental.

---

[103] Dozarea ornitin-transcarbamilazei nu se poate face în sânge sau fibroblaşti din piele

Profilaxie. Profilaxia se bazează pe depistarea precoce a heterozigotelor prin dozarea amoniemiei la copiii de sex feminin ai mamelor heterozigote. O altă metodă constă în depistarea prenatală a cazurilor de boală la embrionii de sex masculin al femeilor heterozigote.

XI.5.2. BOLI PRIN DEFICITE ALE PROTEINELOR IMPLICATE ÎN TRANSPORT ŞI STOCAJ

XI.5.2.1. Hemoglobinopatii

Date generale. Hemoglobinopatiile constituie un grup de afecțiuni, caracterizate printr-un deficit de transport intraeritrocitar al oxigenului. Incidența globală a hemoglobinopatiilor este foarte mare, 1/20 de persoane fiind purtătoare a unei mutații la nivelul uneia dintre genele ce codifică lanțurile de globină, din structura hemoglobinei. Prezența unei hemoglobinopatii este certificată de depistarea unei anomalii de migrare electroforetică a hemoglobinei.

Genetică. Au fost identificate mai mult de 700 de mutații diferite şi cel puțin 500 dintre acestea cauzează hemoglobinopatii. Mutațiile pot afecta gene β-globinei (localizată 11p) sau gena α-globinei (localizată 16p) şi pot avea transmitere recesivă sau dominantă. În raport cu efectul asupra moleculei de hemoglobină A, mutațiile pot cauza modificări calitative sau cantitative. În cazul mutațiilor ce determină modificări calitative, hemoglobina este constituită din două lanțuri α şi două β, dar unul din aceste lanțuri au funcție modificată. Tipurile de mutații întâlnite în astfel de cazuri sunt: mutații punctiforme (substituții), deleții, inserții, mutații cu afectarea cadrului de lectură („*frame-shift*"), mutații la nivelul codonului terminal (tabelul XI.14.). În cazul modificărilor cantitative, mutațiile afectează producerea de lanțuri α (α-talasemie) sau lanțuri β (β-talasemie) cu formarea unei cantități reduse sau absența producerii de HbA.

Mutațiile care afectează aminoacizi situați la nivelul situsurilor de fixare ale hemului sau de interconectare a lanțurilor generează hemoglobine instabile care precipită intraeritrocitar, cauzând anemie hemolitică. Exemple de astfel de hemoglobine anormale sunt: Hb S, Hb C, Hb E, Hb Gun Hill etc.

Mutațiile care modifică aminoacizi situați în situsurile implicate în fixarea oxigenului pot cauza trei tipuri de efecte. Astfel, se pot produce:

- methemoglobinemii (hemoglobina este stabilă în forma redusă) precum în cazul Hb Boston sau Hyde Park;
- hemoglobine cu afinitate scăzută pentru oxigen precum Hb Kansas;
- hemoglobine cu afinitate crescută pentru oxigen precum Hb Chesapeake sau Heathrow.

Tabelul XI.15. Tipuri de mutaţii în hemoglobinopatii

Tip de mutaţie	Hb mutantă	Efect primar	Efect celular
Puntiformă	S	β6, glu→val	Precipitarea Hb → hematii în seceră
	C	β6, glu→lys	Cristalizarea Hb → anemie hemolitică medie
	E	β26, glu→lys	Reducerea sintezei lanţului β →anemie hemolitică uşoară
Deleţie terminală	Freiburg Lyon	β, 23→0 β, 17→0	
Inserţie	Tak	Elongarea lanţului β	Creşterea afinităţii Hb pentru O_2 → policitemia vera
Cu decalarea cadrului de lectură	Constant Spring	Substituţie în codonul stop al lanţului α → elongare	Formarea unui lanţ α instabil → anemie hemolitică medie
Crossing-over inegal	Lepore	Genă hibrid (δβ) ce conţine capătul 5`al genei δ şi capătul 3`al genei β	Sinteză redusă a lanţului hibrid δ β
	Gun Hill	Deleţia sau duplicaţia codonilor 91-95	Instabilitatea tetramerului de Hb →anemie hemolitică

XI.5.2.1.1. α-Talasemia

Mecanism patogenic. Mutaţiile caracteristice α-talasemiei sunt crossing-over-urile inegale la nivelul domeniului familiei de gene α. Un astfel de crossing-over poate cauza pierderea sau duplicaţia genei α_1 sau α_2 (figura XI.10.).

Efectele mutaţiilor în α-talasemie depind de numărul de lanţuri absente. În condiţii normale în fiecare moleculă de hemoglobină există două lanţuri α_1 şi două lanţuri α_2 (αα/αα). Absenţa unui singur lanţ α (αα/α-) nu are efecte fenotipice, individul fiind purtător asimptomatic al mutaţiei. Absenţa a două lanţuri determină o formă medie de anemie, aşa numita „trăsătură" α-talasemică. Absenţa a trei lanţuri α (α-/--) determină o formă severă de anemie prin favorizarea asamblării lanţurilor β în tetramere β4, concretizată prin depistarea de HbH. Absenţa completă a lanţurilor α (--/--) este incompatibilă cu supravieţuirea, cauzând anemie extremă prin absenţa hemoglobinei, ceea ce duce la *hydropsis fetalis* şi moarte intrauterină.

Diagnostic. Simptomatologia clinică şi modificările paraclinice în α-talasemia diferă în raport cu tipul de mutaţie prezent. La persoanele cu „trăsătură" α-talasemică [α (α-/α-) sau (αα/--)] există doar forme uşoare de anemie, iar hemoglobinemia este de 10-12 g/100 ml sânge. Indivizii cu mutaţii de tip (α-/--) prezintă semne severe de anemie, asociate cu infecţii, hemoliză sau splenomegalie, iar examenele paraclinice indică prezenţa unei hemoglobinemii de 7-10 g/100 ml sânge, respectiv prezenţa HbH. Corelaţia dintre mutaţiile din α-talasemie şi modificările clinice şi paraclinice sunt

prezentate în tabelul XI.15.

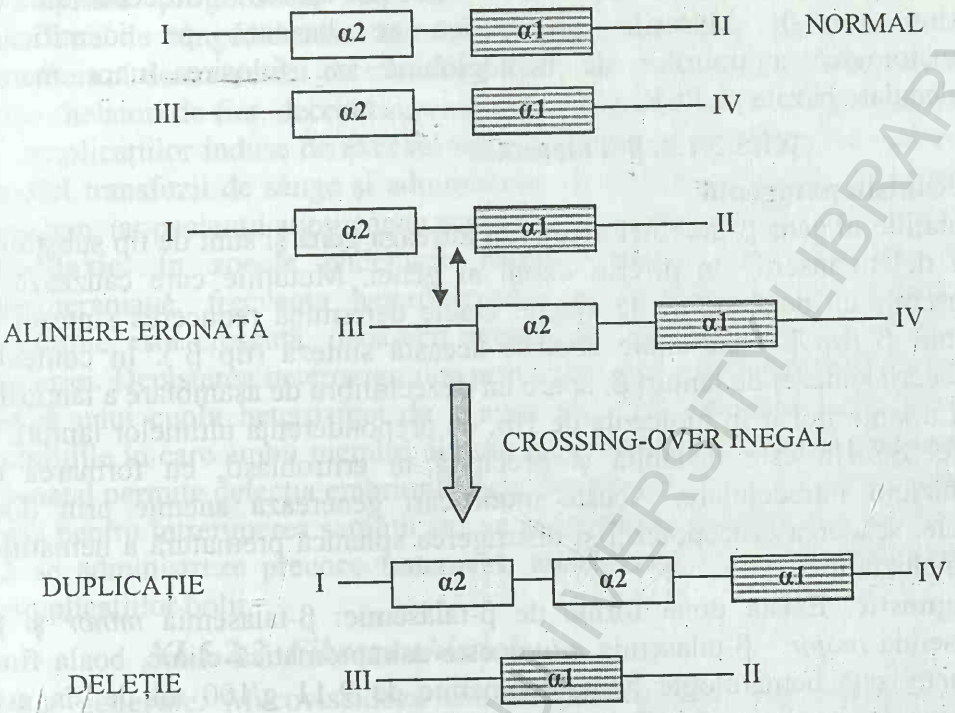


Figura XI.10. Crossing-over inegal la nivelul genelor α-globinelor

Tabelul XI.15. Corelația dintre tipul mutației și caracteristicile α-talasemiei

Tip de α-globină	Tip de hemoglobină	Aspect clinic
αα/αα	HbA ($\alpha_2\beta_2$)	Normal
αα/α-	HbA ($\alpha_2\beta_2$)	Normal (purtător sănătos)
α-/α- sau αα/--	HbA ($\alpha_2\beta_2$)	Anemie moderată (trăsătură α-talasemică)
α-/--	HbA ($\alpha_2\beta_2$) și Hb H (β_4)	Anemie hemolitică
--/--	Hb Barts (γ_4) și Hb Portland ($\zeta_2\gamma_2$)	*Hydrops fetalis*

Tratament. Tratamentul efectuat doar în formele severe, constă în combaterea infecțiilor prin antiobioticoterapie și corecția anemiei prin transfuzii de sânge.

Prognosticul. Prognosticul este bun în toate formele de boală, exceptând embrionii cărora le lipsesc lanțurile α, la care invariabil se produce moartea intrauterină prin *hydropsis fetalis*.

Profilaxie. În zonele endemice pentru malarie, mai ales din Asia de Sud Est, frecvența heterozigoților pentru α-talasemie este crescută, în unele situații, chiar de 1/5 indivizi. În Asia de Sud-Est predomină mutațiile de tip (αα/--),

astfel încât este important screeningul heterozigoților şi identificarea prenatală a embrionilor cu mutație (--/--) ce pot apărea în descendența a doi părinți (αα/--). Măsurile profilactice se bazează pe identificarea hematologică a tipurilor de hemoglobină sau folosirea unor metode moleculare bazate pe PCR.

XI.5.2.1.2. β-Talasemia

Mecanism patogenic.
Mutațiile în gena β-globinei afectează întreaga genă şi sunt de tip substituție sau deleție/inserție în diferiți exoni ai genei. Mutațiile care cauzează β-talasemie au două tipuri de efecte. Unele determină reducerea sintezei de lanțuri β (tip β^+) iar altele abolesc această sinteză (tip β^o). În contextul reducerii sintezei de lanțuri β, apare un dezechilibru de asamblare a lanțurilor β şi a lanțurilor α în molecula de Hb, cu preponderența ultimelor lanțuri. O astfel de Hb este instabilă şi precipită în eritroblaşti, cu formarea de incluziuni intracelulare. Aceste modificări generează anemie prin două efecte: scăderea eritropoiezei şi distrugerea splenică prematură a hematiilor cu incluziuni.

Diagnostic. Există două forme de β-talasemie: β-talasemia *minor* şi β-talasemia *major*. β-talasemia *minor* este asimptomatică clinic, boala fiind caracterizată hematologic hemoblobinemie de 9-11 g/100 ml de sînge şi niveluri uşor ridicate de Hb A_2 (4-6%) şi Hb F (1-3%). β-talasemia *major* numită şi anemie Cooley este o formă severă de boală cu debut în perioada de sugar. Clinic afecțiunea se manifestă prin anemie marcată, hepato-splenomegalie, infecții severe, deformații osoase şi fracturi patologice secundare hiperplaziei măduvei oasoase hematogene. În absența transfuziilor de sânge decesul survine în primii ani de viață. La pacienții care au făcut numeroase transfuzii de sânge, după 15-20 de ani de terapie apar semne de insuficiență cardiacă, hepatică, renală, secundare intoxicației cronice cu fier, în condițiile în care fierul rezultat prin hemoliză nu poate fi excretat. Hematologic boala este caracterizată prin anemie hipocromă microcitară, hemoglobinemie de 3-8 g/100 ml sânge, absența Hb A şi prezența exclusiv de Hb A_2, respectiv Hb F.

Tratament. Terapia este administrată la persoanele cu *β-talasemie major*. Tratamentul constă în transfuzii de sânge periodice, începând cu perioada de sugar. Pentru contracararea efectelor toxice ale fierului este necesară administrarea continuă a unor chelatori de fier, precum desferrioxamina, care favorizează eliminarea renală a surplusului de fier. O astfel de conduită este posibilă doar în condițiile în care modul de administrare al desferrioxaminei este sub formă de pompă subcutanată.

Prognosticul. În formele minore de β-talasemie prognosticul este favorabil,

pacienții având o speranță de viață normală. La pacienții cu forme majore de β-talasemie, prognosticul este nefavorabil. La copiii la care nu se fac transfuzii de sânge, decesul survine în prima copilărie. La pacienții care beneficiază de tratament cu transfuzii de sânge neasociate cu administrarea unor chelatori de fier, decesul survine după 15-20 de ani de terapie ca urmare a complicațiilor induse de excesul feric. La indivizii la care a fost aplicat în paralel transfuzii de sânge şi administrare de desferrioxamină, prognosticul este bun, iar pacienții ating vârsta reproductivă şi duc o viață relativ normală.

Profilaxie. În zonele endemice pentru malarie, mai ales din zona Mediteraniană, frecvența heterozigoților pentru mutațiile ce produc β-talasemie este crescută, deoarece aceştia au imunitate naturală împotriva malariei. Depistarea heterozigoților prin screening este importantă, deoarece riscul unui cuplu heterozigot de a avea un copil afectat este de 25%. În condițiile în care ambii membri ai unui cuplu sunt heterozigoți, diagnosticul prenatal permite detecția embrionilor cu *β-talasemie major*, iar familia poate opta pentru întreruperea sarcinii sau se poate păstra sarcina, iar după naştere să se administreze precoce tratament, astfel încât să fie posibilă evitarea complicațiilor bolii.

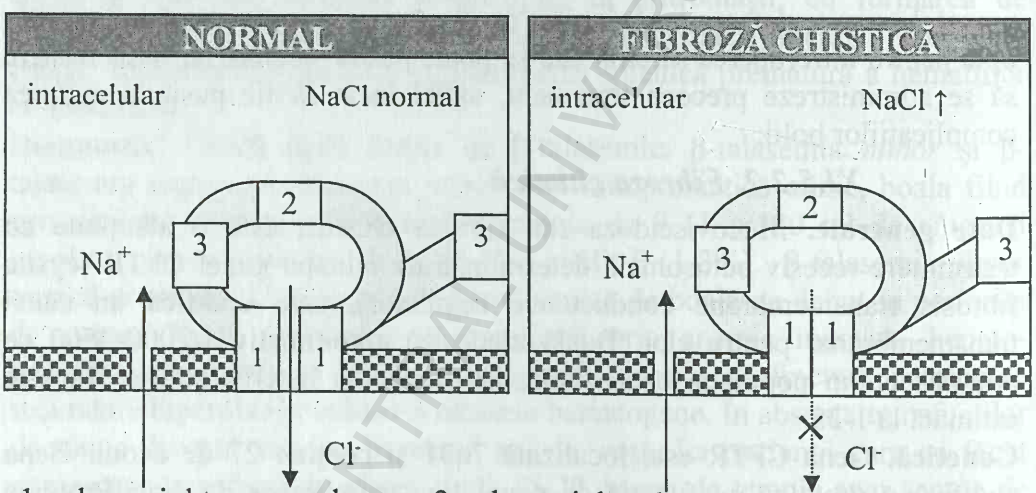
XI.5.2.2. Fibroza chistică

Date generale. Mucoviscidoza sau fibroza chistică este o afecțiune cu transmitere recesiv autosomală determinată de mutația genei CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator), care codifică un canal transmembranar pentru clor. Boala afecetază aproximativ 1/2000-2500 de nou-născuți în populația caucaziană, iar frecvența heterozigoților Na este estimată la 1/25.

Genetică. Gena CFTR este localizată 7q31 şi conține 27 de exoni. Gena codifică o proteină cu funcție de canal transmembranar de clor. Proteina conține 1480 de aminoacizi şi are cinci domenii: două domenii de legare a ATP (furnizează energia necesară transportului transmembranar) două transmembranare (cu funcție de canal de clor) şi un domeniu reglator (inițiază fosforilarea ATP-ului cu deschiderea canalului de clor). La nivelul genei CFTR au fost identificate mai mult de 1000 de mutații, ce pot fi încadrate în următoarele categorii: deleții, mutații *missense*, mutații *nonsense*, mutații cu decalarea cadrului de lectură, mutații ce afectează situsurile de matisare. Majoritatea mutațiilor sunt foarte rare, doar 7 dintre ele având o frecvență >0,5%. Cea mai frecventă mutație, prezentă la aproximativ 70% dintre pacienți, este mutația ΔF508, localizată la nivelul exonului 10 şi care are ca efect absența fenilalaninei din poziția 508 a proteinei.

Mecanism patogenic. Efectul mutațiilor asupra funcției proteice poate fi

grupat în cinci categorii: sinteză proteică redusă, maturare proteică deficitară, activare proteică anormală, transport anormal al clorului şi reglare deficitară a funcţiei proteinei. Prezenţa unei proteine anormale se asociază cu un deficit al excreţiei clorului din celulă, ce produce secundar o acumulare intracelulară de clorură de sodiu, cu îngreunarea secreţiei celulare de mucus (figura IX.11.). Îngroşarea mucusului are efecte negative în special la nivelul sistemului respirator (favorizarea infecţiilor bronşice cronice) şi la nivelul tractului digestiv (insuficienţă exocrină digestivă). Corelaţiile între tipul mutaţiei şi funcţia proteinei au relevat că, atunci când activitatea proteinei mutante este mai mică de 3% din normal, există o formă severă completă de boală. Când funcţia proteinei este conservată în proporţie de 3-8%, apar forme de boală limitate la nivelul pancreasului, în timp ce o conservare a funcţiei proteice în intervalul 8-12% se asociază doar cu formele uşoare de boală, manifestate prin infertilitate masculină.



1 – domeniul transmembranar; 2 – domeniul reglator; 3 – domeniul de fixare al ATP-ului

Figura XI.11. Proteina CFTR normală şi patologică

Diagnostic. Debutul bolii poate fi neonatal sau în cursul copilăriei. În formele uşoare boala devine evidentă în perioada adultă prin sterilitate datorită absenţei congenitale bilaterale a vaselor deferente. Simptomatologia clinică clasică este dominată de modificările respiratorii şi digestive. La nivel pulmonar boala se manifestă prin infecţii recurente cu evoluţie cronică, favorizate de staza secreţiilor la nivel bronşic. La nivel digestiv principala modificare o reprezintă malnutriţia, care antrenează secundar un deficit de absorbţie a principiilor alimentare şi deficit de creştere. Alte manifestări digestive sunt reprezentate de tulburările de tranzit intestinal, uneori

manifeste şi neonatal prin ileus meconial şi crizele de colecistopatie. Examenele paraclinice ce atestă diagnosticul clinic sunt testul sudorii, care indică creşterea concentraţiei de sodiu şi clor în secreţiile sudorale (peste 60mEq/L) şi analiza moleculară care atestă prezenţa mutaţiei.

Tratament. Tratamentul se bazează pe combaterea infecţiilor pulmonare cu o antibioticoterapie agresivă şi adecvată, pe creşterea fluidităţii secreţiilor bronşice şi pe administrarea de enzime digestive pentru stimularea digestiei.

Prognosticul. Prognosticul a fost mult ameliorat în ultimele decenii, astfel încât speranţa de viaţă a crescut de la aproximativ 5 ani în anii '50 ai secolului trecut, la 25-50 ani, dependent de ţară, în momentul actual.

Profilaxie. Profilaxia fibrozei chistice se poate realiza prin screening neonatal şi diagnostic prenatal. Screeningul neonatal se face prin testarea moleculară a tuturor nou-născuţilor pentru 10-30 dintre mutaţiile cele mai frecvente. O problemă a screeningului neonatal o reprezintă rezultatele fals negative, în condiţiile în care eterogenitatea alelică este importantă, iar aproximativ 5% dintre bolnavi sunt heterozigoţi compuşi, având o alelă mutantă rară. Diagnosticul prenatal al bolii se face molecular, în condiţiile în care părinţii sunt heterozigoţi şi se cunosc cu precizie alelele mutante.

XI.5.3. BOLI PRIN DEFECTE ALE PROTEINELOR DE STRUCTURĂ

Proteinele structurale constituie elementele de bază ale oricărei celule. Ele sunt codificate de diverse gene, iar mutaţiile acestora generează boli moleculare. Exemple de boli produse prin defecte ale proteinelor structurale sunt: sindromul Marfan (defect al fibrilinei, componentă a ţesutului conjunctiv)[104], distrofiile musculare Duchenne şi Becker (defect al distrofinei, componentă a fibrei musculare)[105], *osteogenesis imperfecta* (defect al fibrelor de colagen) sferocitoza ereditară (defect al ankyrinei, componentă a membranei eritrocitare). În continuare va fi prezentată una dintre aceste maladii: *osteogenesis imperfecta.*

Osteogenesis imperfecta

Date generale. *Osteogenesis imperfecta* reprezintă un grup de afecţiuni, caracterizate prin eterogenitate genetică alelică şi de locus, cu transmitere dominant autosomală, generate de mutaţii la nivelul genelor ce codifică diferite componente ale colagenului şi care se manifestă clinic în special prin fragilitate osoasă. Pe baza elementelor clinice şi radiografice au fost identificate patru tipuri de *osteogenesis imperfecta.*

---

[104] Vezi capitolul **Gena – unitate de structură, funcţie şi mutaţie**

[105] Vezi capitolul **Gena – unitate de structură, funcţie şi mutaţie**

Genetică. Studiile biochimice şi de genetică moleculară au indicat că mutaţiile se produc la nivelul genelor COL1A1, localizată pe cromosomul 7, respectiv COL1A2, localizată pe cromosomul 17. Majoritatea mutaţiilor sunt *de* novo. Cele două gene codifică lanţurile de procolagen tip I. Asamblarea procolagenului de tip I sub forma unui triplu helix implică unirea a două catene de tip proα$_1$ cu o catenă de tip proα$_2$ şi este condiţionată de existenţa a 338 de repetiţii a 3 aminoacizi de tipul GXY, unde G este întotdeauna glicina, X este de obicei prolina, iar Y este de obicei hidroxiprolina. Astfel, mutaţiile identificate în *osteogenesis imperfecta* pot fi grupate în două categorii. Unele determină haploinsuficienţă deoarece scad sinteza unuia din lanţurile de procolagen, astfel încât se asamblează o cantitate redusă, dar normală de colagen, asociată cu degradarea excesului lanţului de procolagen. Alte mutaţii produc modificări structurale ale catenelor, generând secundar defecte de asamblare ale moleculei de colagen. Dintre acestea cele mai grave sunt substituţiile ce înlocuiesc glicina cu un aminoacid mai voluminos, ceea ce cauzează deficite de asamblare a procolagenului. Procolagenul asamblat eronat

Mecanism patogenic. Mecanismul patogenic din *osteogenesis imperfecta* este diferit în cele 4 forme clinice. În tipul I de boală, fiindcă una din alelele COL1A1 este mutantă se produce o cantitate înjumătăţită de lanţuri proα$_1$, astfel încât şi cantitatea de procolagen va fi redusă la jumătate. Acest deficit de producere al colagenului induce fragilitate osoasă, scăzând mineralizarea osoasă. Datorită anomaliilor structurale ale unuia dintre lanţurile de procolagen, în tipurile II-IV apar defecte de asamblare a moleculei de procolagen, ce afectează 3/4 din totalul de proteină. Aceste molecule sunt instabile, fiind rapid degradate, iar efectele fenotipice sunt mult mai grave decât în tipul I de boală (figura XI.12.).

Diagnostic. Pe baza datelor clinice şi radiologice au fost identificate 4 forme de *osteogenesis imperfecta*, a căror particualrităţi sunt prezentate în tabelul XI.16.

Tratament. Tratamentul simpotamatic, aplicat în fracturi, constă în imobilizare gipsată sau aplicarea unor dispozitive protetice ce fixează osul, împiedicând apariţia de noi fracturi. O terapie recent introdusă se bazează pe administrarea de biofosfonaţi, compuşi medicamentoşi care scad resorbţia osoasă, favorizând fixarea osoasă a calciului cu creşterea densităţii minerale osoase.

Prognosticul. Prognosticul depinde de forma de boală. În tipul I de *osteogenesis imperfecta*, pacienţii au speranţă de viaţă normală, dar prezintă risc crescut de fracturi oricând pe parcursul vieţii. Forma II de boală este letală în perioada neonatală. Formele III şi IV de *osteogenesis imperfecta* se asociază cu deficite de creştere, fracturi frecvente şi deformaţii osoase multiple, de multe ori fiind necesară imobilizarea la pat sau în scaun mobil.

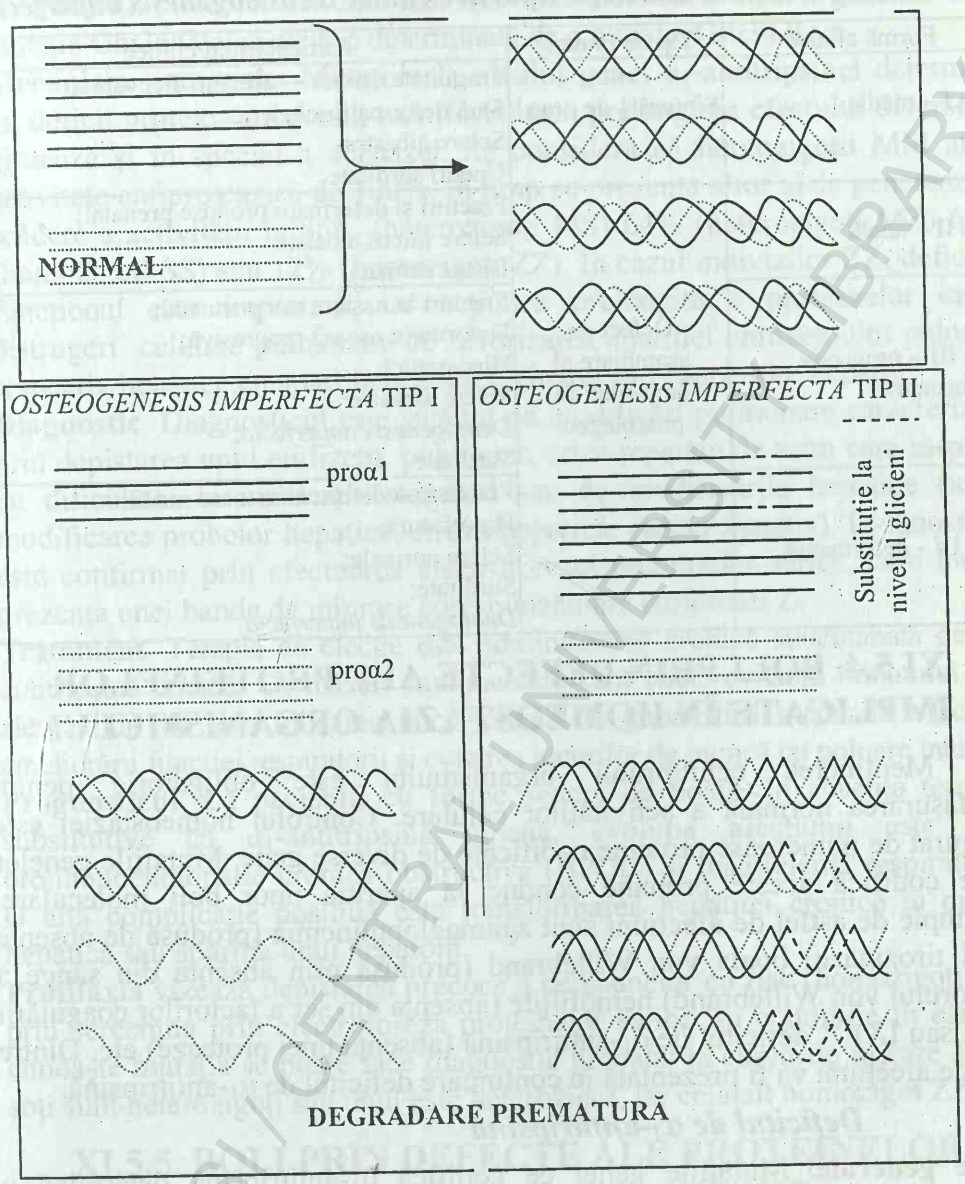


Figura XI.12. Modelul de asamblare al procolagenului

Profilaxie. În contextul în care majoritatea mutațiilor sunt *de novo* și există posibilitatea prezenței unui mozaic germinal, profilaxia este adresată cuplurilor care au avut un copil afectat de *osteogenesis imperfecta*, mai ales cu tipul II de boală. În aceste condiții, se impune efectuarea diagnosticului prenatal prin examinarea radiologică a fătului în trimestrul II de sarcină sau analiza moleculară a amniocitelor când se cunoaște mutația.

UMF IAȘI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Tabelul XI.16. Particularităţie tipurilor clinice de *osteogenesis imperfecta*

Formă clinică	Tip de mutaţie	Particularităţi clinice
Tip I – medie	Sinteză ↓ de proα1	Fragilitate osoasă → fracturi frecvente; Fără deformaţii scheletice; Sclere albastre; Uneori surditate
Tip II – letală	Defect de asamblare al lanţurilor de procolagen	Fracturi şi deformaţii produse prenatal; Sclere intens albastre Deces neonatal
Tip III – progresiv deformantă		Fracturi la naştere sau postnatal; Deformare osoasă progresivă; Hipostatură; Sclere albastre *Dentogenesis imperfecta*; Surditate
Tip IV - deformantă		Fracturi → deformări osoase medii; Hipostatură; Sclere normale; Surditate; *Dentogenesis imperfecta*

XI.5.4. BOLI PRIN DEFECTE ALE PROTEINELOR IMPLICATE ÎN HOMEOSTAZIA ORGANISMULUI

Menţinerea echilibrului organismului este obligatorie pentru desfăşurarea normală a activităţilor celulare. Controlul homeostaziei este asigurat de numeroase proteine codificate de diverse gene. Mutaţiile genelor care codifică aceste proteine conduc la apariţia unor boli moleculare. Exemple de astfel de afecţiuni sunt agamaglobulinemia (produsă de absenţa unei tirozinaze) boala von Willebrand (produsă prin absenţa din sânge a factorului von Willebrand) hemofiliile (absenţa din ser a factorilor coagulării VIII sau IX)[106] deficitul de α_1-antitripsină (absenţa unei proteaze) etc. Dintre aceste afecţiuni va fi prezentată în continuare deficitul de α_1-antitripsină.

Deficitul de α_1-antitripsină

Date generale. Mutaţiile genei ce codifică α_1-antitripsina determină o afecţiune cu transmitere codominantă autosomală, cu expresivitate variabilă şi care are o incidenţă de aproximativ 1/1.500 de indivizi.

Genetică. Gena α_1-antitripsinei este localizată 14q32.1, este manifestă în hepatocite şi codifică o glicoproteină, cu rol de inhibitor al proteazelor (alela M). Studiile de electroforeză a proteinelor din ser a relevat existenţa a mai mult de 70 de tipuri de proteină, rezultate în urma unor mutaţii la nivelul genei α_1-antitripsinei. Majoritatea alelelor mutante sunt foarte rare, fiind rezultatul

[106] Vezi capitolul **Gena – unitate de structură, funcţie şi mutaţie**

unor mutații punctiforme. Cele mai frecvente alele sunt: alela S generată de o mutație Glu264Val și alela Z determinată de o mutație Glu342Lys.

Mecanism patogenic. Mutațiile la nivelul genei α_1-antitripsinei determină un deficit proteic funcțional, manifestat prin prelungirea efectului diverselor proteaze și în special a elastazei. Se consideră că homozigoții MM au o activitate antiprotează de 100%, în timp ce prezența altor alele generează o scădere a activității la 86% (heterozigoți MS) 64% (heterozigoți MZ) 60% (homozigoți SS) sau 12% (homozigoți ZZ). În cazul indivizilor ZZ, deficitul funcțional este important, iar acțiunea prelungită a proteazelor induc distrugeri celulare pulmonare cu favorizarea apariției emfizemului pulonar, respectiv hepatice cu apariția hepatitei, cirozei sau cancerului hepatic.

Diagnostic. Diagnosticul este sugerat de modificări pulmonare caracterizate prin depistarea unui emfizem pulmonar, crize repetate de astm care răspund cu dificultate la medicația standard sau de modificările hepatice (icter, modificarea probelor hepatice, ciroză hepatică, cancer hepatic). Diagnosticul este confirmat prin efectuarea electroforezei proteinelor serice, care indică prezența unei bande de migrare corespunzătoare izoformei Z.

Tratament. Terapia de elecție este administrarea cronică subcutanată de α_1-antitripsină umană. Ca măsuri suplimentare sunt citate evitarea fumatului și a alergenilor din aer, folosirea unor tehnici de gimnastică medicală adecvate ameliorării funcției respiratorii și evitarea locurilor de muncă cu poluare intensă.

Prognosticul. La pacienții cu forme severe de boală, în absența terapiei substitutive cu α_1-antitripsină umană, evoluția afecțiunii este spre bronhopneumopatie cronică obstructivă (BPOC) și insuficiență respiratorie. O altă complicație posibilă este transformarea hepatitei cronice în ciroză hepatică sau apariția unui hepatom.

Profilaxia vizează depistarea precoce a persoanelor cu risc (homozigoți ZZ) prin screening prin electroforeza proteinelor serice. În condițiile în care se cunoaște mutația se poate face diagnostic prenatal la cuplurile în care ambii soți sunt heterozigoți sau unul este heterozigot, iar celălalt homozigot ZZ.

XI.5.5. BOLI PRIN DEFECTE ALE PROTEINELOR IMPLICATE ÎN EXPRESIA GENICĂ

Expresia genelor în diverse celule este controlată de diverși factori transcripționali. Mutația genelor care codifică acești factori transcripționali cauzează o serie de boli moleculare. Exemple de astfel de boli sunt: sindromul Waardenburg tip I (mutația genei PAX3) sindromul Rubinstein-Taybi (mutația genei CREBBP) holoprozencefalia (mutația genei *Sonic hedghehog)* etc. Dintre maladiile de acest tip va fi prezentat sindromul Waardenburg tip I

Sindromul Waardenburg tip I

Date generale. Sindromul Waardenburg este o boală monogenică dominant autosomală, ce afectează aproximativ 1/270.000 de nou născuți şi se caracterizează prin asocierea dintre surditate şi depigmentare cutanată.

Genetică. Sindromul Waardenburg tip I este generat de mutația genei PAX3. Gena este localizată 2q37 şi codifică un factor transcripțional ce activează gena MITF care controlează tirozinaza, enzimă cheie în melanogeneză şi diferențierea melanocitelor. Au fost identificate mai mult de 50 de mutații diferite, localizate în toate regiunile genice.

Mecanism patogenic. Mutația genei PAX3 blochează activarea normală a tirozinazei, ceea ce împiedică formarea melaninei şi migrarea normală a melanocitelor. Astfel, melanocitele lipsesc din piele, păr, iris şi stria vasculară a cohleei, explicând depigmentarea şi surditatea.

Diagnostic. Diagnosticul clinic se bazează pe evidențierea a cel puțin 2 criterii majore sau a unui criteriu major în asociere cu 2 criterii minore. Criteriile majore sunt: distanță crescută între cantusurile interne ale ochilor, anomalii de pigmentare (meşă frontală albă, absența pigmentării genelor şi sprâncenelor, depigmentare cutanată, heterocromie iriană[107]) şi surditatea neurosenzorială. Criteriile minore sunt reprezentate de: sinofris[108], rădăcină nazală proeminentă, hipoplazia aripilor nazale, încărunțire prematură. Diagnosticul clinic este confirmat de depistarea molecualră a mutației.

Tratament. Corecția surdității prin implant cohlear.

Prognosticul. Speranța de viață este normală, dar există dificultăți de integrare socială la pacienții cu surditate.

Profilaxie. Pacienții au un risc de 50% de a avea descendenți anormali. În cazul căsătoriei a doi indivizi afectați riscul este de 75% şi este util diagnosticul prenatal pentru depistarea homozigoților AA sau heterozigoților compuşi, care fac forme de boală mai grave.

XI.5.6. BOLI PRIN DEFECTE ALE PROTEINELOR IMPLICATE ÎN DEZVOLTARE

Dezvoltarea organismului este controlată de o multitudine de gene, unele având activitate de stimulare, iar altele de inhibare a creşterii şi dezvoltării celulare. Acțiunile acestor gene sunt interdependente, astfel încât dezvoltarea este unul din cele mai complexe procese biologice. Mutațiile genelor care controlează dezvoltarea sunt răspunzătoare de apariția unor forme de cancer. Exemple în acest sens sunt mutația genei Rb, asociată cu

[107] Heterocromie iriană – irişi colorați diferiți

[108] Sinofris – unirea celor două sprâncene la nivelul rădăcinii nasului

formele ereditare de retinoblastom (prezentat în continuare în acest capitol) sau mutația genei receptorului Ret, asociată cu neoplazia endocrină multiplă tip 2 (MEN2 – *Multiple Endocrine Neoplasia type 2).*

Retinoblastomul

Date generale. Retinoblastomul este o tumoră embrionară ce afectează 1/20.000 de copii. Dintre acestea aproximativ 60% au caracter sporadic, iar restul de 40% au caracter ereditar, fiind transmise dominant autosomal[109].

Genetică. Formele ereditare de retinoblastom sunt determinate de mutația genei RB, localizată 13q14. Gena RB acționează ca genă supresoare de tumori. Apariția tumorii este condiționată de prezența a două alele mutante sau de prezența unei singure alele mutante în condițiile în care cea de-a doua genă lipsește. În formele ereditare de boală, o alelă mutantă este moștenită de la unul dintre părinți, iar individul este heterozigot Na. Apariția bolii este condiționată de pierderea heterozigoției, fiind posibilă prin mai multe mecanisme: mutație punctiformă somatică în cea de-a doua alelă, deleția genei normale (sau a segmentului cromosomic ce conține gena) nedisjuncție cromatidiană la nivelul cromosomului 13 cu apariția unei monosomii 13 în unele celule, recombinarea mitotică între cromatidele surori (figura XI.13.). Mecanismul implicat în retinoblastomul ereditar este denumit mecanism de „dublă lovitură" (*two hits*).

Mecanism patogenic. Proteina RB se fixează la o serie de factori transcripționali, care stimulează sinteza de ADN. Dependent de nivelul de fosforilare, proteina controlează derularea ciclului celular, blocând celulele în faza G_1 sau permițând trecerea acestora în faza S. În condițiile în care gena este mutantă se modifică fosforilarea proteinei RB, fiind stimulată trecerea în faza S și proliferarea celulară.

Diagnostic. Manifestarea clinică a celor două tipuri de retinoblastom este diferită. Retinoblastomul sporadic este unilateral, are debut după al doilea an de viață, nu se însoțește de risc pentru alte tumori și nu există un istoric familial pozitiv. În cazul retinoblastomului ereditar, istoricul familial este pozitiv, de regulă există mai multe tumori în ambii ochi, are debut precoce în primul an de viață și se însoțește de risc crescut pentru alte tumori (osteosarcom, sarcoame ale țesuturilor moi, melanom, cancer al vezicii biliare).

Tratament. Tratamentul de elecție este extirparea chirurgicală a tumorii. În cancerele ereditare este preferată ablația profilactică a ambilor globi oculari, pentru a preîntâmpina formarea de tumori și în celălalt ochi.

---

[109] Predispoziția genetică pentru apariția retinoblastomului se moștenește în mod dominant, cu penetranță incompletă, dar la nivel molecular gena RB mutantă acționează în mod recesiv, apariția tumorii fiind condiționată de prezența a două alele anormale

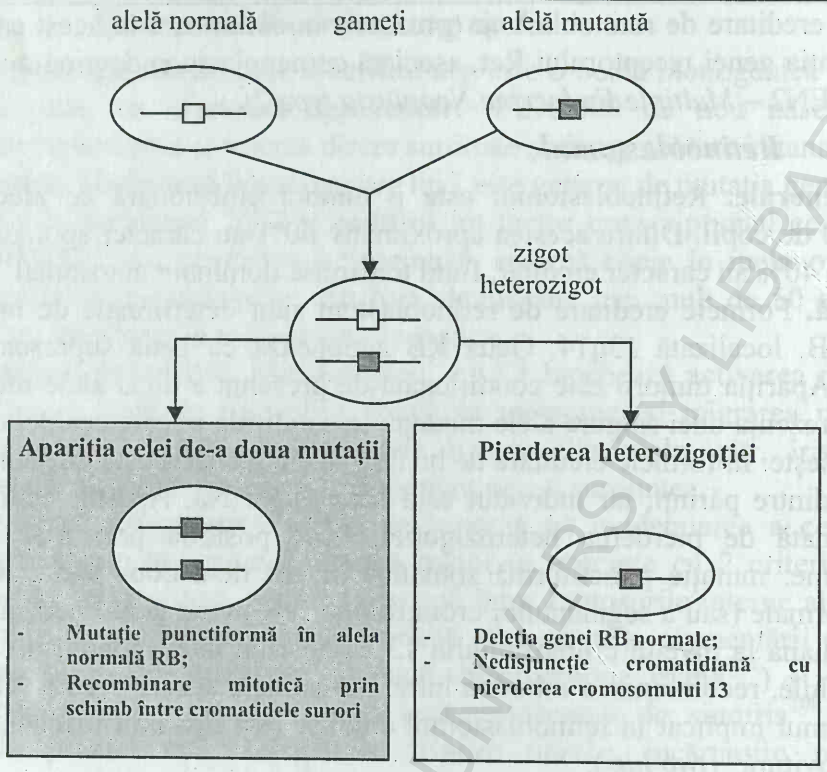


Figura XI.13. Mecanismul de apariție al retinoblastomului – ipoteza celor două lovituri

Prognosticul. Prognosticul este nefavorabil. Chiar şi în tumorile depistate în stadiu operabil, evoluția este marcată de posibilitatea dezvoltării altor tumori cu evoluție fulminantă şi de cecitatea secundară intervenției chirurgicale.

Profilaxie. Nu există metode profilactice specifice.

XI.5.7. BOLI PRIN DEFECTE ALE PROTEINELOR IMPLICATE ÎN METABOLISMUL ŞI COMUNICAREA INTERCELULARĂ

Celulele organismului se află în permanență conexiune, iar aceste procese complexe sunt realizate de o multitudine de hormoni, factori de creştere, proteine şi enzime cu rol în transcripție sau în comunicarea intercelulară directă, receptori pentru unul sau mai multe din substanțele enumerate. Mutațiile genelor ce codifică aceste substanțe cauzează numeroase afecțiuni moleculare. Dintre acestea pot fi enumerate: surditatea neurosenzorială nonsindromică recesiv autosomală (mutația genei conexinei 26) hipoparatiroidismul familial izolat cu transmitere dominant autosomală (mutația genei parathormonului) sindromul Morris

USAMV CLUJ-NAPOCA UNIVERSITY LIBRARY

(mutația genei receptorului pentru androgen) hipercolesterolemia familială (mutația genei receptorului pentru lipoproteinele cu densitatr scăzută) sindroamele Crouzon, Apert și Pfeiffer (mutații ale genei receptorului tip 2 al factorului de creștere fibroblastică) acondroplazia (mutația genei receptorului tip 3 al factorului de creștere fibroblastică) neurofibromatoza tip I (mutația genei neurofibrinei) etc.

XI.5.7.1. Sindromul Morris

Date generale. Sindromul Morris este determinat de o mutație a genei receptorului pentru androgen, ceea ce induce o insensibilitate completă la acțiunea testosteronului. Boala este recesiv autosomală și are o incidență de 1/20.000 de indivizi.

Genetică. Gena care codifică receptorul nuclear al androgenului este localizată Xp. Receptorul pentru androgen face parte din superfamilia receptorilor nucleari, fiind alcătuit din trei domenii: unul N-terminal cu rol transactivator, unul central comun tuturor membrilor familiei care se fixează la ADN și unul C-terminal, localizat pe fața externă a membranei nucleare, la care se fixează androgenul. Analiza cazurilor de sindrom Morris a relevat mai mult de 300 de mutații, majoritatea fiind substituții nucleotidice.

Mecanism patogenic. Mutația genei receptorului pentru androgen blochează transducția semnalului către genele implicate în masculinizare. Astfel, chiar dacă sexul genetic este masculin, iar nivelul de androgeni este normal, dezvoltarea organelor genitale externe se face spontan pe linie feminină

Diagnostic. Diagnosticul bolii se face la pubertate, când este observată amenoree primară la o persoană cu morfotip feminin, caracterizat prin talie înaltă, aspect longilin, dezvoltare redusă a caracterelor sexuale feminine (glande mamare slab dezvoltate, pilozitate sexuală redusă). Examenul local poate releva prezența tetsiculilor la nivelul canalului inghinal sau în interiorul labiilor mari. Analizele hormonale atestă un nivel normal al hormonilor gonadotropi (FSH, LH) nivel crescut de testosteron, nivel scăzut de estrogeni și progesteron. Analizele citogenetice indică test Barr negativ și formulă cromosomică 46,XY. Analiza moleculară atestă tipul de mutație.

Tratament. Tratamentul vizează pe de o parte extirparea testiculilor, iar pe de altă parte substituția cu hormoni sexuali feminini și consilierea psihologică. Eliminarea testiculilor, care de regulă sunt disgenetici, este necesară datorită riscului de apariție a unor gonadoblastoame.

Prognosticul. Speranța de viață este normală, dar pacienții sunt sterili.

XI.5.7.2. Acondroplazia

Date generale. Acondroplazia este o afecțiune dominant autosomală, caracterizată clinic în principal prin hipostatură disproporționată datorită unei

scurtări a oaselor lungi. Boala afectează 1/15.000-40.000 de nou-născuți.

Genetică. Acondroplazia, cea mai frecventă condrodisplazie are penetranță completă şi este generată de mutația receptorului de tip 3 al factorului de creştere fibroblastică (FGFR3). Majoritatea pacienților cu acondroplazie au doar două mutații la nivelul genei FGFR3, localizate în acelaşi punct nucleotidul 1138: o substituție a guaninei cu adenina (98% din mutații) sau citozina (1% din mutații).

Mecanism patogenic. Prezența uneia dintre mutațiile genei FGFR3 determină activarea excesivă a receptorului, prin favorizarea dimerizării acestuia. Aceasta are un efect negativ asupra diferențierii şi proliferării condrocitelor aflate la nivelul cartilajelor de creştere. În aceste condiții, creşterea oaselor lungi este deficitară, în timp ce dezvoltarea oaselor late este normală.

Diagnostic. Diagnosticul clinic este suspectat încă de la naştere, semnul de alarmă fiind hipostatura severă pe baza scurtării oaselor lungi. Alte semne clinice ce pot fi observate în cursul evoluției bolii sunt: configurația în trident a mâinii, hiperlordoză în momentul debutului mersului biped, deformațiile toracolombare în timpul copilăriei, încurbarea membrelor inferioare (*genu varum*), macrocefalie cu bose frontale proeminente.

Tratament. Principalele direcții de tratament sunt corecția hipostaturii şi a deformațiilor toracolombare. Hipostatura poate fi corectată prin administrare de hormon de creştere, dar se pare că terapia are eficacitate doar în primii doi de viață. O altă metodă, dificil de acceptat de către pacienți şi asociată cu multiple riscuri, este alungirea oaselor lungi prin extensie ortopedică. Deformațiile toracolombare trebuie corectate pe cale ortopedică.

Prognosticul. Prognosticul afecțiunii este favorabil, persoanele afectate având o speranță de viață, inteligență şi potențial reproductiv normale. Hipostatura poate cauza dificultăți de integrare socială, iar căsătoria este de regulă cu o persoană cu aceeaşi afecțiune. În condițiile apariției unei sarcini urmărirea evoluției trebuie făcută cu multă atenție, iar naşterea naturală este contraindicată.

Profilaxie. Părinții unui copil afectat sunt de regulă sănătoşi, iar apariția bolii este consecința unei mutații *de novo* asociată cu vârsta paternă avansată. În condițiile în care la nivel germinal există un mozaic, pentru prevenirea naşterii unui alt copil afectat este utilă analiza moleculară prenatală pentru depistarea mutației la nivelul genei FGFR3. Un individ afectat are un risc de 50% de a avea un copil bolnav, iar dacă ambii membri ai cuplului au acondroplazie riscul este de 75%. În ambele situații este utilă detecția prenatală a bolii.

XI.5.7.3. Hipercolesterolemia familială

Date generale. Hipercolesterolemia familială, afecțiune dominant autosomală, este caracterizată prin creşterea nivelului seric al colesterolului şi depunerea acestuia pe pereții vaselor sanguine şi în alte organe. Boala este una din cele

mai frecvente maladii genetice, afectând 1/500 de nou-născuți. Majoritatea bolnavilor sunt heterozigoți An și doar câțiva sunt homozigoți AA[110].

Genetică. Hipercolesterolemia familială este determinată de mutații ale genei receptorului pentru LDL (*Low Density Lypoprotein* – lipoproteine de joasă densitate). Gena este localizată 19p13.1-13.3, fiind identificate mai mult de 700 de mutații. Majoritatea mutațiilor sunt punctiforme (de tip missense sau nonsense) fiind disseminate la nivelul tuturor celor 18 exoni ai genei LDLR. Doar 5% din mutații sunt deleții ale genei LDLR.

Mecanism patogenic. Receptorul pentru LDL este o glicoproteină transmembranară cu 5 domenii funcționale: domeniul de legare al LDL și al apoproteinei E, domeniul similar factorului de creștere epidermică (implicat în reciclarea receptorului) domeniul de fixare al carbohidraților (implicat în stabilizarea moleculei) domeniul membranar și domeniul citoplasmatic (necesar fixării proteinelor implicate în transportul complexului LDL-LDLR). În mod normal, LDLR este produs în reticulul endoplasmatic și apoi excretat prin aparatul Golgi, rămânând atașat la membrana celulară. La acest nivel, pe LDLR se fixează LDL, VLDL și apo E, generând un complex introdus în celulă prin endocitoză. Vezicula de endocitoză ajunge în lizozomi, unde colesterolul este eliberat în citoplasmă, iar receptorul este reciclat. Mutațiile genei LDLR pot avea 5 efecte fenotipice: absența receptorului (mutații de tip I), absența transportului receptorului (mutații de tip II) absența fixării ligandului (mutații de tip III) absența internalizării veziculelor de endocitoză (mutații de tip IV) sau absența reciclării receptorului (mutații de tip V) (figura XI.14.). În toate cazurile, absența receptorului sau deficitul funcțional determină blocarea intrării colesterolului în celulă, cu depunere în țesuturile moi și pe pereții vasculari.

Diagnostic. Diagnosticul clinic este sugerat de depistarea de xantoame (depuneri de colesterol la nivelul tegumentelor și tendoanelor) și xantelasme (depuneri de colesterol periorbitar). Un alt element clinic este existența de episoade de dureri anginoase sau chiar a unui infarct miocardic la persoane tinere (sub 40 ani). Diagnosticul paraclinic certifică diagnosticul evidențiind hipercolesterolemie și plăci de aterom pe pereții arterelor. La homozigoții AA, boala este mult mai severă și de regulă se manifestă prin infarct miocardic în perioada de adolescență și deces înainte de vârsta de 30 de ani.

Tratament. Terapia este diferențiată la heterozogți și homozigoți. La heterozigoți este preferată dieta săracă în lipide și carbohidrați, creșterea exercițiilor fizice, evitarea sedentarismului, administrarea de medicamente ce scad sinteza de colesterol (statine) sau care scad absorbția intestinală de colesterol. La homozigoți, terapia menționată are doar efecte adjuvante, fiind

[110] Frecvența homozigoților AA în hipercoelsterolemia familială este de aproximativ 1/1.000.000 de persoane

preferabilă îndepărtarea extracorporeală a LDL şi VLDL din circulaţie sau transplantul de ficat de la un donator compatibil.

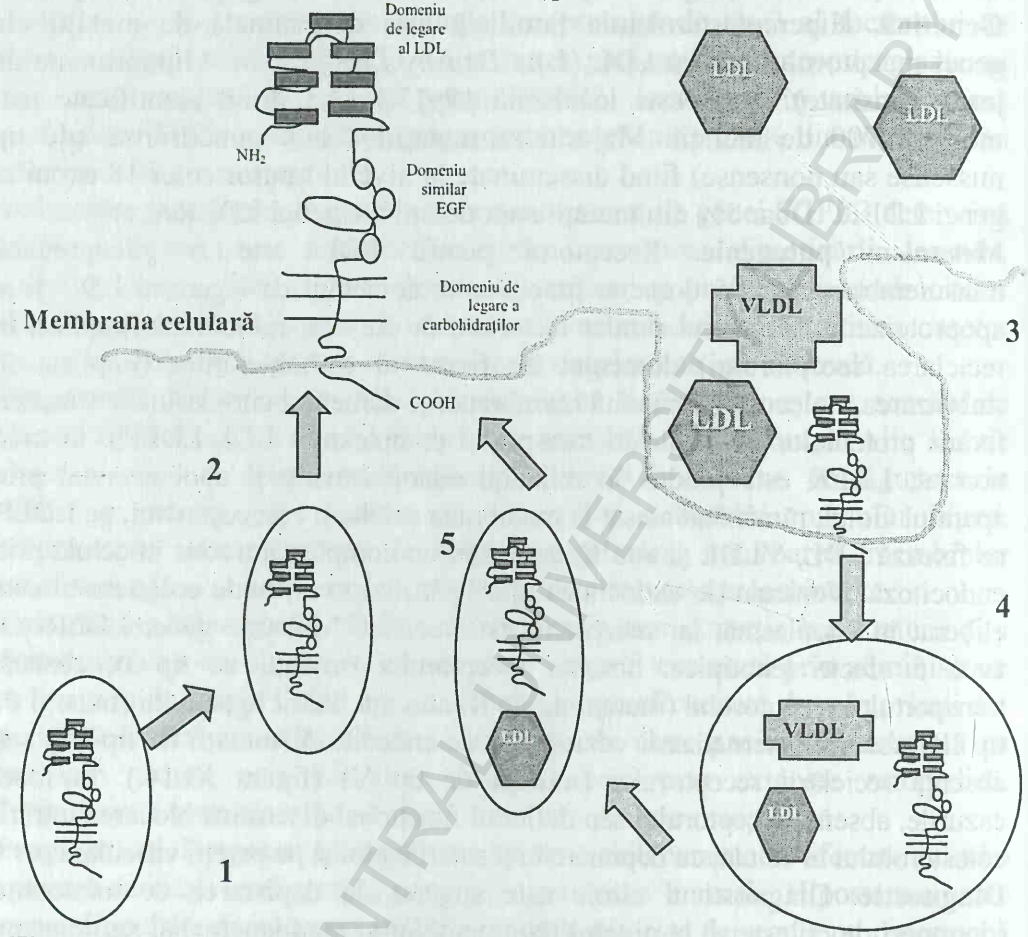


Figura XI.14. Formarea şi mecanismul de acţiune al receptorului pentru LDL
1 – sinteză la nivelul reticulului endoplasmatic; 2 – transport şi excreţie prin intermediul aparatului Golgi; 3 – formarea complexelor LDL, VLDL, LDLR; 4 – internalizarea complexelor LDL, VLDL, LDLR; 5 – reciclarea receptorului pentru LDL

Prognosticul. Prognosticul este grav. Indivizii homozigoţi mor în primele trei decade de viaţă. La heterozigoţi există un risc crescut de infarct miocardic şi moarte subită înainte de 40 ani, mai ales dacă regimul de viaţă este dezordonat.

Profilaxie. Screeningul biochimic al colesterolemiei în perioada de adolescenţă permite selecţia grupurilor populaţionale de risc, asigurând premisele realizării unei profilaxii, respectiv a administrării unei terapii specifice înainte de instalarea complicaţiilor. Ţinând cont că majoritatea pacienţilor sunt heterozigoţi An, ei au un risc de 50% de a avea descendenţi bolnavi. Dacă ambii membri ai unui cuplu sunt heterozigoţi, riscul de a avea un copil afectat este 75%, 1/3 dintre aceştia fiind homozigoţi AA.

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

XII. BOLILE MULTIFACTORIALE

Numeroase caractere normale şi anormale sunt determinate de interacţiunea, în proporţii variate, între factorii ereditari şi de mediu (tabelul XII.1.), fiind considerate a avea o ereditate multifactorială.

Tabelul XII.1. Caractere ereditare normale şi anormale determinate multifactorial

Caractere normale	Caractere anormale	
	Anomalii congenitale (unice, izolate)	Boli comune ale adultului
Tensiunea arterială	Despicătura labio-palatină	Diabetul zaharat
Dermatoglifele	Stenoza hipertrofică de pilor	Epilepsia
Talia	Spina bifida	Glaucomul
Greutatea	Piciorul strâmb congenital	Hipertensiunea arterială
Inteligenţa	Luxaţia congenitală de şold	Boala coronariană
Culoarea pielii	Malformaţii congenitale cardiace	Schizofrenia

Bolile multifactoriale sunt frecvente la copil şi adult (afectează mai mult de 5% din populaţie) şi constituie o cauză importantă de morbidiatate şi mortalitate. Ele au agregare familială, dar transmiterea lor în succesiunea generaţiilor nu respectă legile lui Mendel. Astfel, calcularea riscului de recurenţă se face empiric, fiind mai redus decât în cazul bolilor monogenice. Principalele afecţiuni multifactoriale sunt bolile comune ale adultului şi anomaliile congenitale unice depistate la copii.

Componenta genetică a caracterelor multifactoriale este reprezentată de mai multe gene. Există două teorii referitoare la ereditatea multifactorială:

- **teoria poligenică** – caracterul este determinat de mai multe gene, fiecare având pondere mică în determinismul caracterului respectiv, dar efectele lor sunt cumulate
- **teoria oligogenică** - caracterul este determinat de mai multe gene, dar unele au o pondere mai importantă în etiologia caracterului.

Pentru evaluarea factorilor genetici în determinismul unui caracter multifactorial este utilizat un indice, numit **heritabilitate (h^2).** Acesta reprezintă raportul dintre variaţia factorilor genetici implicaţi în formarea acelui caracter şi variaţia fenotipurilor pe care le determină:

$$h^2 = V_G/V_F$$

unde V_G este variaţia factorilor genetici, iar V_F variaţia fenotipurilor.

În tabelul XII.2. este prezentată heritabilitatea pentru unele boli multifactoriale.

B.C.U. „M. EMINESCU" IAŞI
BIOLOGIE

Tabelul XII.2. Heritabilitatea în boli multifactoriale

Boala	Incidența în populație (%)	Heritabilitatea
Schizofrenia	1	85
Astmul	4	80
Despicătura labială / palatină	0,1	76
Stenoza pilorică	0,3	75
Spondilita anchilopoietică	0,2	70
Piciorul strâmb congenital	0,1	68
Boala coronariană	3	65
Hipertensiunea arterială esențială	5	62
Subluxația congenitală de șold	0,1	60
Anencefalia și spina bifida	0,3	60
Ulcerul peptic	4	37
Malformații congenitale cardiace	0,5	35

XII.1. TIPURI DE EREDITATE MULTIFACTORIALĂ

Studiile genetice ale caracterelor multifactoriale au relevat trei modele patogenice:

- modelul distribuției continue (caractere multifactoriale cantitative);
- modelul distribuției discontinue (caractere multifactoriale „cu prag");
- modelul eredității oligogenice.

XII.1.1. EREDITATEA MULTIFACTORIALĂ A CARACTERELOR CANTITATIVE

Modelul distribuției continue explică modul de transmitere a numeroase caractere cantitative, precum: tensiunea arterială, talia, greutatea, inteligența etc. Aceste caractere sunt rezultatul intervenției mai multor gene şi a factorilor de mediu. Efectele acestor gene, care ocupă loci diferiți, sunt mici şi aditive, fără a exista relații de dominanță – recesivitate sau codominanță.

Caracterele cantitative prezintă următoarele particularități:

- **distribuția continuă în populație** (sunt prezente la toate persoanele, dar se manifestă cu grade diferite de intensitate) - reprezentarea grafică a distribuției este o curbă Gauss. Cu cât numărul genelor implicate este mai mare, cu atât reprezentarea grafică este mai apropiată de o curbă Gauss. De exemplu, prin acțiunea unei perechi de gene alele codominante rezultă 3 fenotipuri distincte, două perechi determină 5 variante fenotipice, trei perechi 7 variante fenotipice etc. (figura XII.1.).
- ca urmare a distribuției de tip gaussian, majoritatea indivizilor manifestă caracterul respectiv cu o intensitate medie, în timp ce valorile extreme ale acelui caracter, foarte mici sau foarte mari, se regăsesc în populație la

un număr minim de persoane. Astfel, nu există **o distincție clară între normal și patologic.** Diferențierea se realizează prin calculul deviației standard (DS)[111] și/sau al percentililor (P)[112]. Deviația standard este egală cu radicalul variației fenotipice. Percentilii arată procentul indivizilor din populație ce manifestă caracterul cu o anumită intensitate.

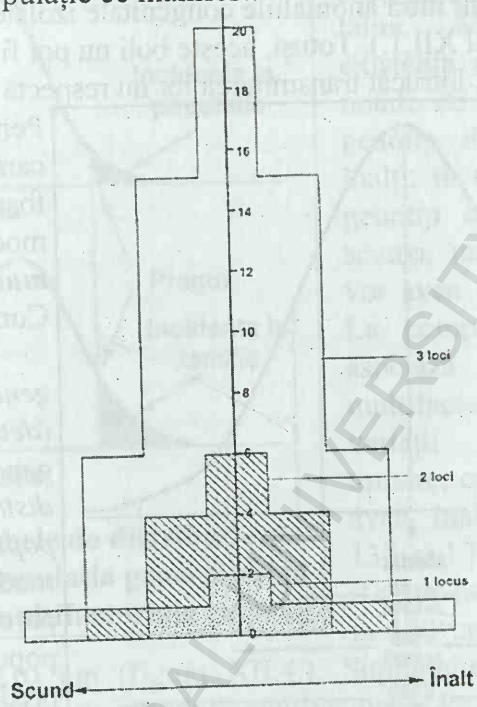


Figura XII.1. Distribuția fenotipurilor în cazul înălțimii, dacă se consideră existența a 1, 2 sau 3 loci, fiecare cu câte două alele cu frecvență egală

- Se consideră că 68% din indivizii populației au intensitatea manifestării fenotipice corespunzătoare unei valori ce se înscrie în intervalul ± 1 DS, iar 95% în intervalul ± 2 DS (figura XII.2.). Pentru majoritatea caracterelor multifactoriale cantitative se consideră patologice manifestările fenotipice care nu se încadrează în intervalul $-2DS \rightarrow +2DS$.
- **tendința de "regresie spre medie"** a caracterului în succesiunea generațiilor. În cazul în care un cuplu parental prezintă un caracter cantitativ, precum talia sau inteligența, a cărui valoare este situată spre unul din capatele scalei de valori, la descendenți valoarea caracterului respectiv va fi apropiată de media manifestării.

[111] Deviație standard - indicator statistic al gradului in care o valoare individuală dintr-o distribuție probabilă tinde să varieze față de media distribuției

[112] Percentil - valoarea până la care se află un anumit procent din valorile distrbuției

XII.1.2. EREDITATEA MULTIFACTORIALĂ CU PRAG

Un număr important de caractere multifactoriale anormale nu au o distribuţie de tip continuu în populaţia generală, ci o distribuţie bimodală, unele persoane prezentând acel caracter anormal, altele nu. În această categorie de afecţiuni intră anomaliile congenitale izolate şi unele boli comune ale adultului (tabelul XII.1.). Totuşi, aceste boli nu pot fi încadrate în categoria bolilor monogenice, întrucât transmiterea lor nu respectă legile lui Mendel.

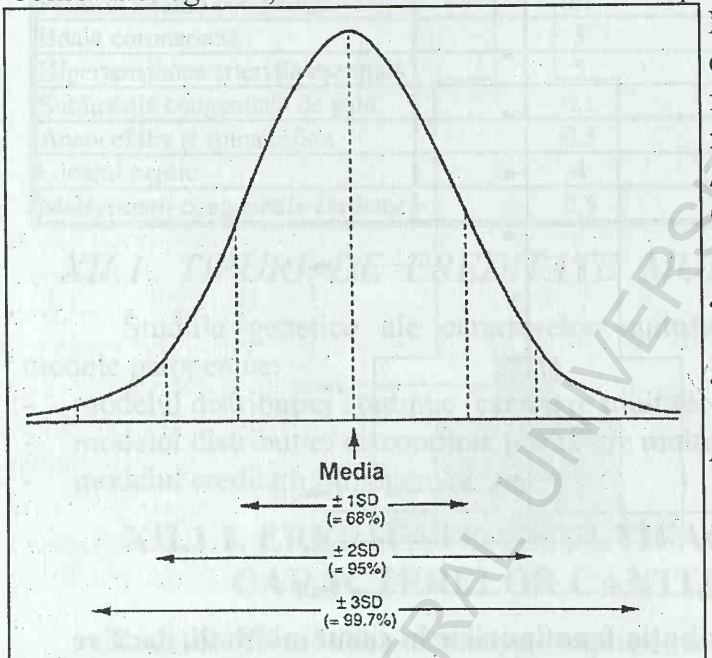


Figura XII.2. Distribuţia gaussiană a caracterelor multifactoriale cantitative

Pentru acest gen de caractere anormale a fost propuse aşa-numitul model al ***eredităţii multifactoriale cu prag***. Conform acestui model:

- *predispoziţia genetică la boală (determinată de factorii genetici) prezintă o distribuţie continuă în populaţie* (după un model gaussian). Orice persoană dintr-o populaţie prezintă o predispoziţie la boală, mai mare sau mai mică.
- *există însă un aşa-numit prag al acestei predispoziţii, care odată depăşit determină apariţia bolii.* Aşa se explică distribuţia bimodală a acestor boli, o persoană putând fi sau sănătoasă, sau bolnavă.

Modelul eredităţii multifactoriale cu prag explică tendinţa de agregare a acestor boli în familie. În cazul rudelor unei persoane bolnave, acestea au un număr mai mare de gene de susceptibilitate şi, de aceea, curba de distribuţie a predispoziţiei este deplasată către dreapta, în timp ce pragul rămâne acelaşi (figura XII.3.).

XII.1.3. EREDITATEA OLIGOGENICĂ

În unele afecţiuni multifactoriale a fost identificată influenţa crescută a câtorva gene cu efect major şi în asociere cu alte gene şi factori de mediu care au efecte mici suplimentare. Astfel, a fost elaborat modelul oligogenic care permite identificarea mai uşoară a genelor de risc şi un calcul mai exact

al riscului de recurență. Genele care au rolul cel mai important în determinismul unor asemenea caractere se numesc **gene majore**, iar restul factorilor alcătuiesc componenta multifactorială.

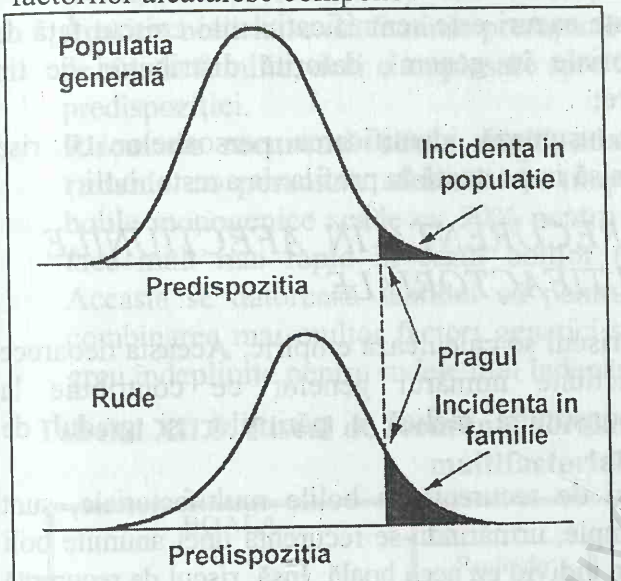


Figura XII.3. Curbele de distribuție ale predispoziției în populația generală și la rude în afecțiuni multifactoriale cu prag

Un model oligogenic a fost propus pentru determinismul taliei. Modelul presupune existența a două gene majore notate cu *A* și *a*. Indivizii cu genotip *AA* tind să fie mai înalți, în timp ce indivizii cu genotip *aa* tind să fie mai scunzi, iar cei cu genotip *Aa* vor avea o talie intermediară. La componenta genetică se asociază componenta multifactorială care generează variații suplimentare. Ca urmare, cei cu genotip *aa* vor avea înălțimi cuprinse între 130 și 170 cm, cei cu genotip *Aa* vor avea talii de 150 până la 190 cm, iar cei cu genotip *AA* între 170 și 210 cm (figura XII.4.). Suprapunerile dintre cele trei genotipuri sunt generate de "fondul" multifactorial. Pe ansamblu, distribuția după înălțime a populației urmează o curbă de tip gaussian prin suprapunerea celor trei distribuții ale fiecărui genotip.

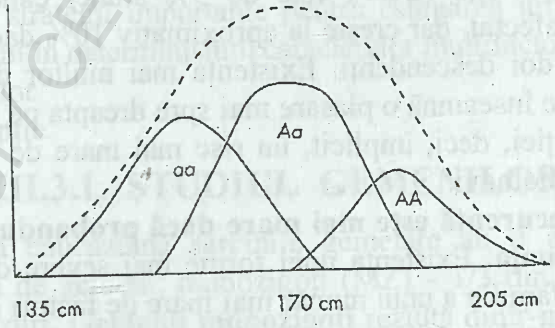


Figura XII.4. Distribuția gaussiană a taliei

Multe din așa-numitele "boli comune ale adultului" par a fi rezultatul unui determinism oligogenic, ca urmare a intervenției unor gene majore. Identificarea acestor cazuri este importantă deoarece:

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

- studiul lor permite identificarea genelor majore care ar putea reprezenta chei importante în înțelegerea fiziopatologiei şi în descoperirea unor noi metode terapeutice;
- riscul de recurență în aceste cazuri este semnificativ mai crescut față de situația bolilor multifactoriale în general, datorită distribuției de tip mendelian a genelor majore;
- determinismul oligogenic uşurează identificarea persoanelor cu risc crescut într-o familie, premisă importantă în profilaxia acestor boli.

XII.2. RISCUL DE RECURENȚĂ ÎN AFECȚIUNILE MULTIFACTORIALE

În bolile multifactoriale riscul se calculează empiric. Aceasta deoarece nu sunt cunoscute cu exactitate numărul genelor ce contribuie la determinismul acelei boli, constituția alelică a părinților şi gradul de implicare al factorilor de mediu.

Pentru aprecierea riscului de recurență în bolile multifactoriale, sunt necesare studii populaționale ample, urmărindu-se recurența unei anumite boli în familiile în care există deja un individ cu acea boală. Însă, riscul de recurență variază de la o populație la alta, deoarece frecvența alelelor mutante şi factorii de mediu prezintă variații importante de la o regiune la alta.

În condițiile absenței cazurilor de boală multifactorială într-o familie, riscul apariției unei astfel de afecțiuni este de aproximativ 3%. În cazul existenței unor persoane afectate riscul de recurență este influențat de mai mulți factori:

- **Riscul de recurență este mai mare atunci când în familie sunt mai mulți indivizi afectați.** De exemplu, riscul de recurență pentru un defect de sept ventricular (DSV) este de 3% atunci când există un singur descendent afectat, dar creşte la aproximativ 10% dacă malformația este prezentă la doi descendenți. Existența mai multor descendenți bolnavi într-o familie înseamnă o plasare mai spre dreapta pe curba de distribuție a predispoziției, deci, implicit, un risc mai mare de apariție a unor noi descendenți bolnavi.
- **Riscul de recurență este mai mare dacă probandul are o formă mai severă de boală.** Existența unei forme mai severe de boală presupune existența în familie a unui număr mai mare de factori de risc genetici sau ambientali, deci o plasare spre dreapta a curbei predispoziției. De exemplu, în cazul despicăturii labio-palatine, riscul de recurență creşte de la 2% (forme unilaterale) la peste 6% (forme bilaterale).
- **În cazul bolilor ce prezintă o frecvență mai mare la un anumit sex, riscul de recurență este crescut dacă probandul aparține sexului mai**

rar afectat. De exemplu în stenoza hipertrofică de pilor, afecțiune mai frecventă la sexul masculin (1/200 băieți față de 1/1.000 fete), riscul de recurență este mult mai mare când probandul este de sex feminin. Apariția bolii la sexul feminin presupune acumularea mai multor factori de risc în familie, deci o amplasare spre dreapta a curbei de distribuție a predispoziției.

- **Riscul de recurență scade rapid odată cu creșterea gradului de rudenie cu persoana afectată.** În timp ce riscul de recurență pentru bolile monogenice scade cu 50% pentru fiecare generație, reducerea se face mult mai rapid în cazul bolilor multifactoriale (tabelul XII.3.). Aceasta se datorează faptului că pentru apariția bolii este nevoie de combinarea mai multor factori genetici și de mediu, condiții care pot fi greu îndeplinite pentru rudele mai îndepărtate.

Tabelul XII.3. Riscul de recurență corelat cu gradul de rudenie în boli multifactoriale

BOALA	RISCUL (%)			
	Rude de gradul 1	Rude de gradul 2	Rude de gradul 3	Populația generală
Despicătura labio/palatină	4,0	0,7	0,3	0,1
Piciorul strâmb congenital	2,5	0,5	0,2	0,1
Luxație congenitală de șold	5,0	0,6	0,4	0,2
Autismul infantil	4,5	0,1	0,05	0,04

XII.3. METODE DE APRECIERE A DETERMINISMULUI GENETIC AL UNUI CARACTER MULTIFACTORIAL

Există două strategii importante pentru estimarea influenței relative a eredității și mediului în determinismul caracterelor multifactoriale:

- studiul gemenilor
- studiile de adopție.

XII.3.1. STUDIUL GEMENILOR

În populația caucaziană sarcinile gemelare au o incidență de 1%. Există două tipuri de gemeni: monozigoți (MZ) – 1/3 din cazuri și dizigoți (DZ) – 2/3 din cazuri. **Gemenii monozigoți** rezultă dintr-un singur zigot, ca urmare a separării embrionului în două mase distincte în cursul primelor 14 zile post-fecundare. Ei reprezintă clone naturale și au un aspect fizic asemănător. **Gemenii dizigoți** sunt rezultatul unei ovulații duble urmate de fertilizarea fiecărui ovul de câte un spermatozoid. Ei au același grad de asemănare genetică precum doi frați.

Deoarece gemenii MZ sunt identici genetic, orice diferenţă între ei este determinată de intervenţia factorilor de mediu.

Studiul gemenilor constă în compararea a diferite caractere între gemenii MZ şi DZ. Acest tip de studiu are aplicabilitate pentru analiza caracterelor multifactoriale „cu prag". Dacă membrii unei perechi de gemeni prezintă un anumit caracter (de exemplu, despicătură palatină), ei sunt **concordanţi**. Dacă nu prezintă acelaşi caracter, ei sunt **discordanţi**. Pentru caracterele determinate exclusiv genetic, concordanţa la gemenii MZ este întotdeauna completă, în timp ce gemenii dizigoţi au o concordanţă mai redusă, deoarece ei au în comun doar 50% din gene. În cazul caracterelor cantitative, precum talia sau tensiunea arterială, testul gemenilor nu este potrivit pentru estimarea concordanţei.

Compararea ratelor de concordanţă sau a coeficienţilor de corelaţie între gemenii MZ şi DZ permite aprecierea ponderii factorilor genetici în determinismul caracterelor multifactoriale.

Studiul gemenilor prezintă însă unele dezavantaje:

- dificultatea realizării de studii pe loturi mari care ar da rezultate semnificative statistic;
- existenţa unor diferenţe genetice între gemenii MZ în ceea ce priveşte:
  - tipul anticorpilor şi cel al receptorilor limfocitelor T prin rearanjamente epigenetice;
  - mutaţiile somatice;
  - numărul moleculelor de ADN mitocondrial (deoarece împărţirea lor are loc prin fenomene epigenetice);
  - modelul inactivării unuia din cei doi cromosomi X la gemenii MZ de sex feminin.
- posibilitatea ca gemenii DZ să aibă taţi diferiţi;
- gemenii MZ care cresc împreună sunt supuşi acţiunii aceloraşi factori de mediu, fapt care poate influenţa rata de concordanţă pentru unele caractere. Pentru a evita acest factor de eroare, o metodă utilă este studiul gemenilor MZ crescuţi în medii diferite.

XII.3.2. STUDIILE DE ADOPŢIE

Studiile de adopţie reprezintă metodele cele mai bune pentru discriminarea între factorii genetici şi cei de mediu în determinismul unui caracter. În situaţia în care copiii proveniţi dintr-o familie în care apare o anumită boală cu caracter familial dezvoltă acea boală mai frecvent decât copiii adoptaţi din familii sănătoase, rezultă că există un factor genetic care intervine în determinismul acelei boli. De exemplu, circa 8 - 10% din copiii

unor părinți schizofrenici adoptați de familii sănătoase dezvoltă această boală, față de doar 1% în cazul copiilor adoptați care au părinți sănătoși.

Ca și în cazul studiului gemenilor, există câțiva factori ce pot influența rezultatele, exagerând aparent importanța factorilor genetici:

- factorii de mediu ce acționează prenatal pot avea consecințe de lungă durată;
- copiii sunt adoptați deseori după ce au fost crescuți un număr de ani în cadrul familiei;
- de multe ori agențiile de adopție caută părinți adoptivi din medii asemănătoare socio-economic cu cele de origine.

XII.4. IDENTIFICAREA GENELOR IMPLICATE ÎN DETERMINISMUL CARACTERELOR MULTIFACTORIALE

Studiul gemenilor sau studiile de adopție nu sunt capabile să identifice genele specifice implicate în determinismul caracterelor multifactoriale, aspect important pentru înțelegerea corectă a patogeniei și pentru tratamentul corect al acestor boli. Identificarea genelor implicate în determinismul caracterelor multifactoriale este dificilă datorită: heterogenității de locus, penetranței incomplete, debutului tardiv al multor boli multifactoriale sau existența fenocopiilor[113].

Pentru identificarea locilor genetici implicați în determinismul caracterelor multifactoriale sunt utilizate mai multe strategii:

- **Analizele de înlănțuire** sunt utile pentru bolile cu transmitere monogenică, dar și pentru unele afecțiuni în care intervin gene majore de susceptibilitate (determinism oligogenic).
- **Metoda perechilor de descendenți afectați** se bazează pe identificarea familiilor în care există doi sau mai mulți frați afectați. La aceștia se realizează o scanare a întregului genom cu markeri polimorfici. Această metodă a fost utilizată pentru evidențierea regiunilor HLA ce contribuie la susceptibilitatea pentru diabetul zaharat tip I. Dezavantajele metodei sunt reprezentate de necesitatea unor loturi mari și rezoluția redusă.
- **Studiile de dezechilibru al înlănțuirii** utilizează scanarea întregului genom cu ajutorul unor seturi de markeri polimorfici, precum microsateliții sau polimorfismele mononucleotidice (*single nucleotide polymorphisms* – SNPs).
- **Studii de înlănțuire pe modele animale.** Această metodă a fost utilizată pentru studiul unor boli precum hipertensiunea arterială sau diabetul

[113] Fenocopie – prezența unei afecțiuni similare unei boli genetice la indivizi fără a fi purtători ai unei mutații genice

zaharat tip I. Metoda permite identificarea unor gene individuale ce intervin în determinismul unor boli multifactoriale.

XII.5. EXEMPLE DE BOLI MULTIFACTORIALE

XII.5.1. ANOMALII CONGENITALE IZOLATE

XII.5.1.1. Defectele de tub neural

Defectele de tub neural reprezintă un ansamblu de anomalii congenitale ce interesează modul de formare al sistemului nervos central şi al elementelor scheletice ce protejează aceste structuri. Defectele de tub neural pot fi izolate, când au determinism multifactorial sau pot fi asociate cu alte anomalii congenitale în cadrul unor sindroame plurimalformative cu etiologie cromosomică (trisomia 18) sau monogenică (sindromul Meckel).

Incidența defectelor de tub neural izolate variază de la o populația la alta, având valori cuprinse în intervalul 0,1-1%.

Determinismul defectelor de tub neural izolate este multifactorial implicând asocierea dintre factori genetici şi factori de mediu. Factorii genetici nu sunt încă cunoscuți, dar intervin într-o proporție de 60% în determinismul afecțiunii. Studiile efectuate pe animale model (şoareci) au permis identificarea a cel puțin 60 de gene candidat care intervin în formarea tubului neural. Principalul factor ambiental este deficitul de acid folic preconcepțional şi în primele 4 săptămâni de sarcină[114]. Absența completă sau parțială a acestei vitamine se asociază cu o scădere a metilării homocisteinei la metionină, deoarece acidul folic este cofactor al metilentetrahidrofolat reductazei, enzima ce catalizează metilarea. Efectele negative sunt mai importante la indivizii care au mutația C677T la nivelul genei metilentetrahidrofolat reductazei.

Mecanismul patogenic al anomaliei îl reprezintă blocarea completă sau parțială a transformării canalului neural în tub neural în săptămânile 3-4 de sarcină.

Clinic defectele de tub neural (DTN) pot fi complete sau parțiale. Absența completă a tubului neural este o anomalie incompatibilă cu supraviețuirea şi poartă numele *craniorahischizis totalis*. Închiderea incompletă a tubului neural poate fi localizată la nivelul zonei craniene sau în regiunea coloanei vertebrale. Cea mai gravă anomalie de acest tip este **anencefalia**, caracterizată printr-un defect de închidere a polului anterior al tubului neural. În aceste condiții, encefalul, meningele, calota craniană şi

[114] În mod normal închiderea tubului neural se încheie la sfârşitul celei de-a 4 săptămâni de gestație

scalpul lipsesc, iar anomalia este neviabilă (fie determină naşterea de copii morţi, fie nou-născuţii decedează în primele ore de viaţă). Localizarea în porţiunea occipitală a craniului este caracteristică **meningoencefalocelului**. Când prin orificiul occipital herniază meningele, anomalia este numită *meningocel*, în timp ce prezenţa atât a meningelui, cât şi a unor structuri cerebrale constituie *meningoencefalocel*. Cea mai comună şi mai puţin gravă anomalie este **spina bifida**. Aceasta este de obicei localizată în regiunea lombară şi este consecinţa unui defect de fuziune a arcurilor vertebrale. Spina bifida poate fi *oculta* (anomalia afectează arcurile vertebrale) sau *aperta* (deschisă) când prin orificiul format poate hernia meningele (*meningocel)* sau şi structuri nervoase (*meningomielocel*). Prezenţa unei *spina bifida aperta* generează o serie de complicaţii neurologice precum: hidrocefalie, picior strâmb congenital şi paralizie a membrelor inferioare sau incontinenţă sfincteriană (vezicală şi anală).

În meningoencefalocel şi *spina bifida aperta*, tratamentul este neurochirurgical şi trebuie efectuat de urgenţă în primele 2 zile după naştere. De asemenea trebuie corectată o eventuală hidrocefalie (şunt ventriculoperitoneal). Terapia chirurgicală elimină complet complicaţiile în doar 5% din cazuri, dar scade riscul de infecţie astfel încât supravieţuirea la 5 ani a ajuns la aproximativ 40%. Alte metode adjuvante de terapie sunt cele ortopedice, aplicabile la pacienţii ce menţin un oarecare grad de mobilitate a membrelor inferioare şi autocateterizarea vezicală în cazul incontinenţei de urină.

În condiţiile gravităţii afecţiunii şi a prognosticului infaust, de maximă importanţă este profilaxia defectelor de tun neural. Sunt vizate două aspecte: suplimentarea alimentară cu acid folic şi depistarea prenatală a defectelor de tub neural. Suplimentarea dietei cu acid folic se face peri- şi postconcepţional) – 0,4-0,8 mg acid folic/zi – ceea ce scade riscul apariţiei defectelor de tub neural cu 75-90%. Depistarea prenatală impune screening biochimic (nivel crescut al α-fetoproteinei în serul matern, respectiv nivel crescut al α-fetoproteinei şi a acetilcolinesterazei în lichidul amniotic) şi ecografic (evidenţierea defectelor majore de tub neural) urmate de întreruperea sarcinii dacă anomalia este neviabilă.

Riscul de recurenţă al defectelor de tub neural este de 4-5% la rudele de gradul I şi la descendenţii unei persoane afectate, când este un singur caz de boală în familie şi de aproximativ 12% dacă sunt doi indivizi bolnavi.

XII.5.1.2. Despicăturile buco-maxilo-palatine

Despicăturile labio-palatine (DLP) constituie anomalii congenitale frecvente, carcaterizate prin fuzionarea incompletă sau absentă a procesului maxilar cu cel nazal mediu.

Incidența medie este 1/700 de nou-născuți, cu variații în diferite populații (1/500-1/2.500 nou-născuți).

Din punct de vedere etiopatogenic şi clinic despicăturile labio-palatine pot fi împărțite în două categorii: despicături labiale cu/fără despicătură palatină (DL/P) şi despicături palatine (DP).

DL/P reprezintă aproximativ 2/3 din totalul acestui tip de anomalii. Ele pot fi izolate (~70% din cazuri) sau asociate cu alte anomalii în cadrul unor sindroame plurimalformative. Din punct de vedere clinic DL/P pot fi unilaterala (80% din cazuri) sau bilaerale, respectiv complete (despicătura se întinde până la nivelul nărilor şi cuprinde şi palatul) sau incomplete (limitate la nivelul buzei). DP sunt izolate în 50% din cazuri sau asociate cu alte anomalii în cadrul unor sindroame plurimalformative în restul cazurilor. Sindroamele plurimalformative ce prezintă şi DLP (aproximativ 350 de afecțiuni) pot fi cromosomice (trisomie 13, 18, deleție 22q) monogenice (van der Woude, EEC, Stickler, Smith-Lemli-Opitz, Meckel, oro-facio-digital tip I) sau multifactoriale (secvență Pierre Robin).

În despicăturile izolate etiologia este multifactorială, dar cu o componentă genetică importantă, aspect dovedit de concordanța caracterului de 40-60% la gemenii monozigoți, comparativ cu doar 5% la gemenii dizigoți. Studiile genetice au permis identificarea a mai mult de 10 loci de susceptibiltate, iar principalele gene candidat sunt: IRF6, MSX1 FGFR1, TGFB3, GABRB3 şi PVRL1. Dintre factorii de mediu ce au fost asociați cu apariția DLP pot fi enumerați: deficitul de acid folic, hipervitaminoza A, unele antiepileptice (fenitoină, acid valproic) talidomida, consumul cronic de alcool, tabagismul, unele pesticide (dioxina).

Mecanismul patogenic al afecțiunii constă în blocarea completă sau parțială a fuzionării proceselor maxilare şi nazal mediu, în zilele 36-37 de viață embrionară.

Prognosticul bolii este favorabil în condițiile în care se asigură corecția chirurgicală a defectului congenital. Dintre complicațiile bolii pot fi enumerate: deficitul de supt (mai ales în formele complete bilaterale) tulburări de fonație, anomalii dentare (dinți absenți, supranumerari sau deformați). Pentru limitarea efectului acestor complicații de maximă importanță este depistarea neonatală a oricărei forme de DLP (de exemplu aproximativ 10% din DP scapă diagnosticului neonatal). În DL/P se practică de urgență corecția anomaliei (anomaliilor) labiale), iar corecția deficitului palatin este amânată până la vârsta de 12-14 luni. Ulterior, la adolescență (după încheierea procesului de creştere craniană) se practică corecția estetică a anomaliei.

Riscul de recurență al DLP izolate este dependent de gradul de complexitate al anomaliei şi de numărul de cazuri de boală din familie. Astfel, în DL/P rudele de gradul I şi copiii unei persoane afectate, când există un singur caz de boală, au un risc de recurență de aproximativ 4%. În schimb, dacă există mai mult de două cazuri de boală, riscul ajunge la aproximativ 10%. Pe de altă parte, riscul de recurență la rudele de gradul II este de 0,6%, iar la cele de gradul de III de circa 0,3%, valori apropiate de cele din populația generală (0,1%). În DP izolate riscul în populația generală este de 0,04%, în timp ce în familiile unde există o persoană afectată riscul de recurență este de aproximativ 1,8% la rudele de gradul I şi de 3% la copiii persoanei bolnave. În situațiile când există mai mult de două cazuri de boală riscul de recurență în familie este de aproximativ 8%.

Profilaxia DLP vizează suplimentarea dietei cu acid folic periconcepțional şi în timpul sarcinii, evitarea factorilor de risc ambientali şi depistarea prenatală a afecțiunii prin ecografie fetală.

XII.5.2. BOLILE COMUNE ALE ADULTULUI

XII.5.2.1. Boala Alzheimer

Boala Alzheimer este o boală neurodegenerativă asociată cu îmbătrânirea. Prevalența afecțiunii este de aproximativ 5% la persoanele peste 65 de ani şi de 20% la cele mai în vârstă de 80 de ani.

Etiopatogenia afecțiunii nu este complet elucidată, dar în majoritatea cazurilor există un determinism multifactorial. Astfel, heritabilitatea în boala Alzheimer a fost estimată la 44-80%. Pe baza studiilor de înlănțuire genică, în formele multifactoriale de boală Alzheimer au fost identificate cel puțin 5 gene morbide. Cea mai importantă asociere a fost relevată între prezența izoformei E4 a apolipoproteinei E şi riscul de boală Alzeheimer. Astfel, la bărbații homozigoți E4 riscul de a dezvolta boala Alzeheimer este de 35%, în timp ce la femei acest risc ajunge la 53%.

În puține cazuri a fost depistată o etiologie monogenică, boala având o transmitere dominant autosomală şi un debut precoce înainte de vârsta de 65 de ani. În acest tip de afecțiuni au fost identificate trei gene: APP – de pe cromosomul 21 (5% din cazurile de boală Alzheimer cu debut precoce)[115], PSEN1 localizată pe cromosomul 14 (70% din cazuri) şi PSEN2 localizată pe cromosomul 1 (5% din cazuri).

Mecanismul patogenic al afecțiunii este parțial descifrat. În principal, sub acțiunea factorilor exogeni (stress oxidativ, modificări hormonali,

[115] prezența unei copii suplimentare a genei APP este asociată cu degradarea precoce a potențialului intelectual la bolnavii cu sindrom Down.

îmbătrânire) şi în prezența mutațiilor diferitelor gene, la nivelul sistemului nervos se acumulează amiloid, cu aapriția plăcilor senile şi a agregatelor neurofibrilare (figura XII.5.)

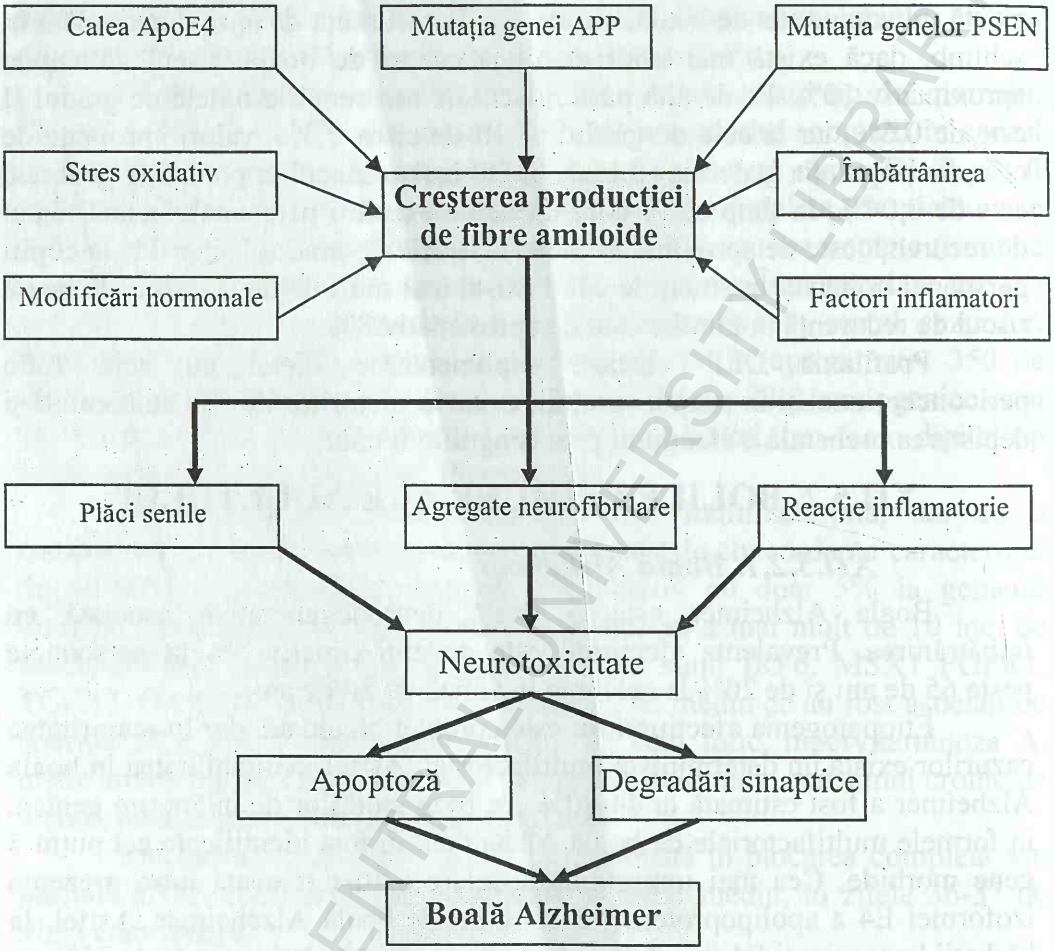


Figura XII.5. Modelul patogenic al bolii Alzheimer

Boala are debut insidios şi se caracterizează prin atrofie corticală progresivă (prin pierderea neuronilor) şi deteriorare intelectuală lentă (amnezie, afazie, agnozie, dezorientare temporo-spațială) asociată cu tulburări emoționale. În final se ajunge la demență şi deces.

Identificarea tipului de boală Alzheimer are importanță în acordarea sfatului genetic, deoarece în formele dominant autosomal descendenții unei persoane afectate au un risc de 50% de a face maladia, în timp ce în cazurile cu ereditate multifactorială riscul este mult mai mic (6-10%).

Boala nu beneficiază de un tratament specific. Au fost puse la punct mai multe scheme terapeutice, bazate pe folosirea unor inhibitori de colinesterază (tacrina, donepezilul, rivastigmina, galantamina) dar acestea

asigură doar o ameliorare temporară în 30-40% din cazurile cu forme medii sau uşoare.

Astfel, singurele măsuri certe sunt cele profilactice, axate pe evitarea stresului oxidativ şi al inflamaţiei, modularea activităţii hormonale sau administrarea de trofice ale sistemului nervos central.

XII.5.2.2. Boala coronariană

Boala coronariană,caracterizată prin apariţia de leziuni ischemice la nivelul arterelor coronariene, reprezintă o cauză majoră de morbiditate şi mortalitate în ţările dezvoltate. Astfel prevalenţa bolii la vârsta de 55 ani este de 1/60 bărbaţi şi de 1/90 femei. În plus, boala coronariană cauzează 1/4 - 1/2 din cazurile de deces la vârsta adultă.

Epidemiologia afecţiunii este complexă şi implică atât factori genetici (monogenici şi poligenici), cât şi factori ambientali. Contribuţia genetică în determinismul bolii coronariene este de cel puţin 60%. Aceste particularităţi au fost confirmate de studiile familiale (risc crescut la rudele de gradul I al unei persoane bolnave, risc crescut în raport cu expunerea la factori nocivi de mediu etc.) şi de studiile gemenilor (concordanţă mai mare la gemenii monozigoţi, comparativ cu cei dizigoţi).

Transmiterea susceptibilităţii crescute pentru boala coronariană este rezultanţa transmiterii intergeneraţionale a obiceiurilor de viaţă şi a factorilor de risc ambientali, precum şi a numeroase gene de risc. Astfel, statusul socioeconomic parental este copiat de către descendenţi, relevante pentru boala coronariană fiind "moştenirile" alimentare şi tabagismul. Principalii factori de risc din mediul ambiant sunt: excesul de grăsimi în alimentaţie, fumatul, consumul cronic de alcool, stressul şi sedentarismul. În plus, mecanismul patogenic al bolii coronariene este intricat cu alte boli comune ale adultului, precum: diabetul zaharat, hipertensiunea arterială sau hiperlipidemiile

Un număr important de gene au fost asociate cu creşterea riscului de boală coronariană. Existenţa acestui număr crescut de gene poate fi explicată de faptul că procesarea lipidelor în organism sau reglarea tensiunii arteriale (doi dintre factorii de risc principali) se face în multiple etape, controlate de intervenţia a numeroase enzime, codificate de gene diferite. De exemplu, principalele etape ale metabolismului lipidic sunt absorbţia intestinală a trigliceridelor şi colesterolului, biosinteza, transportul şi metabolismul lipoproteinelor. Aceste etape sunt controlate în linii mari de apolipoproteine, receptorii pentru lipoproteine şi lipaze.

Deşi au fost identificate şi forme monogenice, precum hipercolesterolemia familială, acestea sunt răspunzătoare pentru mai puţin de 10% din cazurile de boală coronariană. Astfel, majoritatea cazurilor de boală

coronariană au un determinism poligenic, fiecare genă având un efect mic ce se cumulează la efectul celorlalte gene. Au fost depistate mai mult de 20 de gene de risc, ce intervin în metabolismul lipidelor, controlul tensiunii arteriale, coagulare şi fibrinoliză. Astfel ţinând cont de numărul mare de gene şi alele implicate, de interacţiunile intergenice şi de interacţiunile genelor cu factorii ambientali modificatori, se poate considera că boala coronariană este o boală multifactorială. În tabelul XII.4. sunt prezentate principalele gene implicate în etiopatogenia bolii coronariene şi produşii lor funcţionali.

Tabelul XII.4 Principalele gene implicate în boala coronariană

Genă	Localizare	Funcţie
receptorul pentru LDL	19p32	Îndepărtarea colesterolului din circulaţie
apolipoproteina AI	11q23	Componentă a HDL[116]
apolipoproteina AII	1p	Componentă a HDL
apolipoproteina AIV	11q	Componentă a HDL şi a chilomicronilor
apolipoproteina B	2p24	Ligand pentru receptorul pentru LDL[117].
apolipoproteina CI	19q	Activator al lecitin-colesterol-aciltransferazei
apolipoproteina CII	19q	Inactivarea lipoprotein-lipazei
apolipoproteina CIII	11q	Variaţie alelică asociată cu hipertrigliceridemia
apolipoproteina D	2p	Componentă a HDL
apolipoprotein E	19q13.2	Ligand pentru receptorul LDL.
lipoproteina a	6q27	Transportul colesterolului.
lipoprotein lipaza	8p	Hidroliza lipoproteinelor
triglicerid-lipaza hepatică	15q	Hidroliza lipoproteinelor
lecitin-colesterol-aciltransferaza	16q	Esterificarea colesterolului
proteina de transfer a esterilor de colesterol	16q21	Intervine în transferul esterilor de colesterol şi al lipoproteinelor fosfolipidice
enzima de conversie a angiotensinei	17q23	Conversia angiotensinei I la angiotensină II.

Un exemplu de polimorfism genic implicat în patogenia bolii coronariene a fost identificat la nivelul genei enzimei de conversie a angiotensinei. La nivelul intronului 16 al genei au fost depistate două tipuri de mutaţie: o deleţie (D), respectiv o inserţie (I). Persoanele homozigote pentru deleţie (DD) au o enzimă de conversie a angiotensinei cu activitate crescută comparativ cu homozigoţii pentru inserţie (II) sau heterozigoţi (ID). Astfel, ei produc mai multă angiotensină II, care are un puternic efect vasoconstrictor, ceea ce favorizează infarctul miocardic.

Mecanismul patogenic al bolii coronariene este comun cu cel al aterosclerozei. Astfel, depunerea de lipide în intima vaselor sanguine

[116] HDL – *High Density Lypoprotein* – Lipoproteine cu densitate crescută
[117] LDL – *Low Density Lypoprotein* – Lipoproteine cu densitate redusă

determină formarea unor plăci ateromatoase ce conțin fibre musculare netede, lipide şi țesut fibros. Ulterior, se produce vascularizarea acestor plăci, urmată de sângerare, ulcerare şi calcificare. Aceste procese induc îngustarea lumenului vascular şi constituie substratul trombozelor care generează obturarea completă a arterei coronariene şi apariția infarctului miocardic.

Riscul de producere a bolii coronariene la rudele de gradul I ale unei persoane bolnave este diferit în funcție de sexul persoanei afectate. Astfel, fratele unui bărbat bolnav are un risc de 5 ori mai mare de a dezvolta afecțiunea, în timp ce sora unei astfel de persoane are un risc crescut de doar 2,5 ori. Pe de altă parte, dacă persoana afectată este de sex feminin, riscul rudelor de gradul I ale acesteia de a face boala coronariană este de 7 ori mai mare decât în populația generală.

Profilaxia bolii coronariene vizează două aspecte: depistarea persoanelor cu susceptibilatate crescută şi evitarea factorilor de risc. Astfel, prin determinarea nivelurilor serice ale colesterolului şi a altor lipide sau prin identificarea polimorfismelor genetice (de exemplu, pentru enzima de conversie a angiotensinei) se pot depista persoanele cu risc crescut de a dezvolta boala coronariană. La aceşti indivizi este necesară aplicarea unor măsuri de excludere a factorilor de risc ambientali (evitarea fumatului, a dietei bogate în grăsimi saturate, a sedentarismului) sau se poate încerca corecția medicamentoasă a unor procese fiziopatologice (de exemplu, scăderea colesterolemiei prin administrare de statine sau controlarea presiunii arteriale prin administrare de antihipertensive).

XII.5.2.3. Diabetul zaharat

Diabetul zaharat este o boală umană cu eterogenitate de locus şi clinică, caracterizată biochimic prin valori crescute cronic ale glicemiei. Ea afectează circa 6% din populația adultă. Studiile clinice şi genetice au relevat trei tipuri de diabet, care diferă prin particularitățile clinice şi prin tipul de transmitere. Acestea sunt:

- *diabetul zaharat insulinodependent de tip I* (IDDM[118]);
- *diabetul zaharat noninsulinodependent de tip II* (NIDDM[119]);
- *diabetul zaharat al tânărului cu debut la maturitate* (MODY[120]).

În afara acestor forme de diabet mai există o serie de boli genetice ce se asociază cu diabet (de exemplu hemocromatoza sau distrofiile miotonice) şi diabetul gestațional caracterizat prin valori crescute ale glicemiei pe parcursul sarcinii şi revenire la normal după naştere.

---

[118] IDDM – *Insulino Dependent Diabetus Mellitus*
[119] NIDDM – *Non Insulino-Dependent Diabetes Mellitus*
[120] MODY – *MaturityOnset Diabetes of the Young*

XII.5.2.3.1. Diabetul zaharat de tip I

Diabetul zaharat de tip I (IDDM) este o boală multifactorială cu o prevalenţă de aproxiamtiv 1/200 de persoane. Maladia are debut în copilărie sau adolescenţă, iar controlul ei impune administrarea cronică de insulină. Acest tip de diabet se caracterizează prin distrugerea celulelor β pancreatice şi rareori este asociat cu obezitatea.

Etiologia este multifactorială, factorii genetici având o ponderè de cel mult 50% (concordanţă la gemenii monozigoţi de 35-40%, comparativ cu 5-10% la gemenii dizigoţi).

Studiile genetice au stabilit existenţa a doi loci majori de susceptibilitate în diabetul zaharat insulino-dependent: IDDM1 şi IDDM2. În afara acestor loci, cel puţin încă 20 de gene par a fi implicate în etiologia IDDM, dar rolul lor este mult mai redus.

Locusul IDDM1 este situat 6q21, în apropierea locusului pentru genele sistemului HLA. La aproximativ 95% dintre pacienţii cu diabet de tip I a fost identificată prezenţa unor haplotipuri HLA-DR3 şi HLA-DR4.

Cel de-al doilea locus major de susceptibilitate este localizat pe cromosomul 11p15, unde este situată gena insulinei şi centrul regional de control al acţiunii acestei gene. La nivelul regiunii de control genic există o serie de secvenţe repetitive de ADN de 14 pb (secvenţe microsatelit). Prezenţa unui număr redus de astfel de secvenţe repetitive determină reducerea expresiei genei insulinei în timusul fetal, scăzând astfel toleranţa organismului pentru insulină şi celulele β pancreatice.

Patogenia pare a fi autoimună, iar factorul declanşator îl reprezintă cel mai probabil infecţiile virale. Caracterul autoimun este susţinut de asocierea dintre IDDM şi anumite haplotipuri HLA, precum şi de prezenţa frecventă a altor maladii autoimune (de exemplu, tiroiditele autoimune, anemia pernicioasă sau boala Addison) asociate diabetului zaharat de tip I. În această formă de boală nivelul insulinei este scăzut, în timp ce răspunsul organelor ţintă la acţiunea hormonului este normală (figura XII.6.).

Riscul de recurenţă al bolii la rudele apropiate şi la descendenţii unei persoane afectate este în medie de 5-6%. Totuşi la rudele apropiate acest risc creşte la 20-25% în condiţiile în care acestea au 2 alele HLA-DR3/HLA-DR4. În situaţia în care ambii membrii ai unui cuplu parental au diabet zaharat de tip I, riscul lor de a avea un copil bolnav este de aproximativ 30%.

Prognosticul bolii este destul de rezervat, deoarece afecţiunea se caracterizează prin numeroase complicaţii (arteriopatie periferică sau viscerală cu afectare retiniană, cerebrală, coronariană, renală, neuropatie etc.). Complicaţiile se traduc prin orbire, boală coronariană, insuficienţă

renală cronică, polineuropatie etc. Prognosticul este ameliorat de controlul strict al nivelului glicemiei prin administrare cronică de insulină.

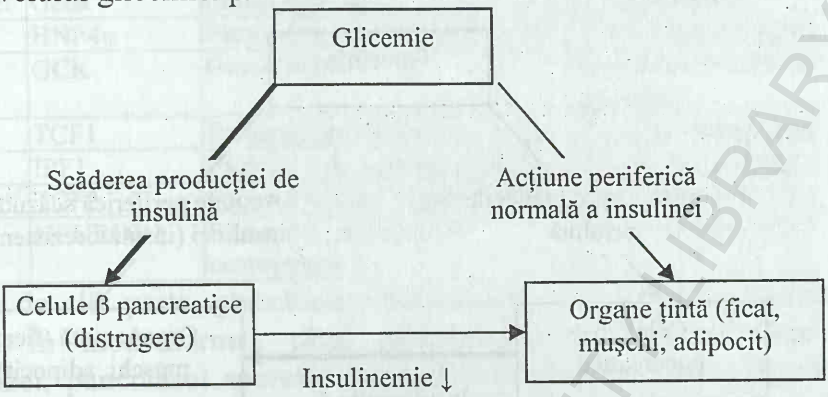


Figura XII.6. Mecanismul patogenic în IDDM

XII.5.2.3.2. Diabetul zaharat de tip II

Diabetul zaharat de tip II (NIDDM) este o boală multifactorială cu o prevalență de aproxiamtiv 5% din persoanele adulte. Maladia are debut în perioada de maturitate (după 40-45 ani), iar controlul ei nu impune administrarea cronică de insulină, ci doar de regim alimentar şi antidiabetice orale. În acest tip de diabet nu există o distrugere a celulelor β pancreatice, dar în schimb deseori este observată o rezistență celulară la acțiunea insulinei, aspect coroborat cu prezența obezității.

Etiologia este multifactorială, factorii genetici având o pondere mult mai importantă decât în IDDM (concordanță la gemenii monozigoți de 90%, comparativ cu 40-45% la gemenii dizigoți). Dintre factorii ambientali asociați diabetului zaharat de tip II pot fi enumerați: obezitatea, alimentația hipercalorică, sedentarismul şi hipetensiunea arterială.

În NIDDM, a fost imposibilă stabilirea unor loci majori de susceptibilitate, deşi cel puțin 20 de gene par a fi implicate. Dintre acestea pot fi citate genele insulinei, a receptorului pentru insulină, a glucokinazei, a glicogen-sintetazei, a apolipoproteinelor, a lipoprotein-lipazei, respectiv unele din genele mitocondriale.

Patogenia diabetului zaharat de tip II este legată de dezechilibrul metabolismului celular al glucozei, datorit în principal rezistenței celulare la acțiunea insulinei (figura XII.7.) deşi nivelul hormonal este normal sau chiar crescut. Astfel, în această formă de diabet este redus efectul inhibitor al insulinei asupra gluocneogenezei hepatice, precum şi consumul periferic de glucoză.

Riscul de recurență al bolii la rudele apropiate şi la descendenții unei persoane afectate este în medie de 15%, de 3-3,5 ori mai mare decât în

populaţia generală. În cazul în care ambii părinţi sunt afectaţi de NIDDM, riscul descendenţilor este de 75%.

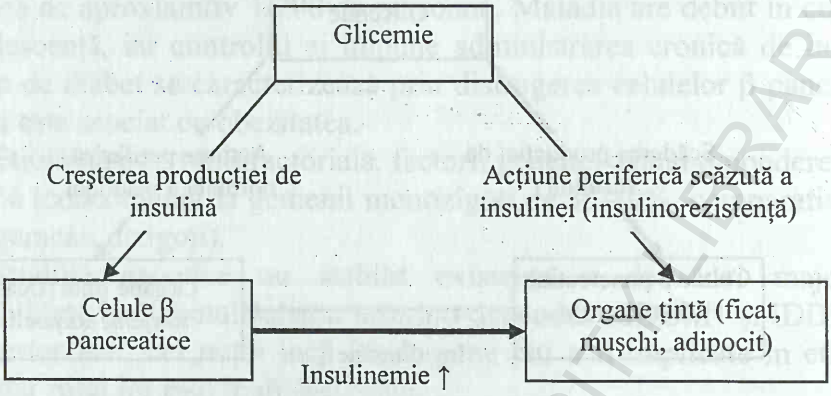


Figura XII.7. Mecanismul patogenic în NIDDM

Prognosticul bolii este destul de rezervat, deoarece afecţiunea se caracterizează prin numeroase complicaţii (arteriopatie periferică sau viscerală cu afectare retiniană, cerebrală, coronariană, renală, neuropatie etc.). Complicaţiile se traduc prin orbire, boală coronariană, insuficienţă renală cronică, polineuropatie, amputaţii ale membrelor etc. Prognosticul este ameliorat de controlul strict al nivelului glicemiei prin regim alimentar şi antidiabetice orale. Când nu există un răspuns adecvat se poate încerca şi administrarea pentru periaode limitate a insulinei, până când nivelul glicemiei se normalizează.

XII.5.2.3.3. Diabetul zaharat de tip MODY

Diabetul zaharat de tip MODY este o formă particulară de diabet, caracterizată prin debut în perioada de adult tânăr şi o transmitere de tip dominant autosomal. Această formă de diabet reprezintă 1-5% dintre toate formele de diabet. Probabil prevalenţa bolii este mult mai mare, în condiţiile în care multe cazuri sunt clasificate fie IDDM, fie NIDDM, datorită pe de o parte simptomatologiei comune, iar pe de altă parte absenţei aplicării unor teste de diagnostic specifice.

Diabetul zaharat de tip MODY este determinat de mutaţii în 6 gene diferite. Aceste gene codifică glucokinaza, respectiv 5 factori transcripţionali implicaţi în dezvoltarea şi funcţionarea normală a celulelor β pancreatice (tabelul XII.5.). Cele mai frecvente forme sunt MODY 2 şi MODY 3.

Efectele clinice ale celor 6 mutaţii este diferit. Astfel, mutaţiile factorilor transcripţionali determină o scădere a sintezei şi secreţiei insulinice de către pancreas. Secreţia insulinică este suficientă pe parcursul copilăriei, dar în perioada adultă devine insuficientă generând diabetul.

Tabelul XII.5. Genele implicate în diabetul zaharat tip MODY

Tip de diabet	Gena	Denumirea genei	Acțiunea genei
MODY 1	HNF4α	Factorul nuclear hepatocitar 4α	Factor de transcripție
MODY 2	GCK	Glucokinază	Controlul metabolismului glucidic
MODY 3	TCF1	Factorul nuclear hepatocitar 1α	Factor de transcripție
MODY 4	IPF1	Factorul 1 de activare al insulinei	Factor de transcripție
MODY 5	TCF2	Factorul nuclear hepatocitar 1β	Factor de transcripție
MODY 6	NEUROD1	Factorul de diferențiere neurogenică 1	Factor de transcripție

Pe de altă parte, gluockinaza acționează ca un sensor pancreatic al glicemiei. În mod normal, când glicemia crește, sub influența și a glucokinazei, pancreasul sporește producția de glucoză. Dacă glucokinaza este deficitară, mecanismul de feed-back este blocat, iar corecția hiperglicemiei devine ineficientă.

Prognosticul formelor de diabet zaharat MODY este bun, exceptând forma MODY 5 în care pot apărea complicații renale. Astfel, de regulă glicemia poate fi corectată doar prin regim alimentar și antidiabetice orale.

Datorită transmiterii dominant autosomale, riscul de recurență al tuturor celor 6 forme de MODY este 50% la toți descendenții unei persoane afectate.

XII.5.2.4. Hipertensiunea arterială

Hipertensiunea arterială (HTA) caracterizată prin creșteri cronice ale valorilor tensionale sistolice, diastolice sau sistolo-diastolice este o boală frecventă, afectând 10-25% din populația cu vârstă mai mare de 40 ani din țările dezvoltate. Prevalența maladiei crește cu vârsta, astfel încât după vârsta de 70 ani aproximativ 40% din populație prezintă HTA.

Au fost depistate două forme majore de HTA, al căror determinism este diferit. Într-un număr mic de cazuri a fost identificat un model de transmitere al bolii de tip monogenic, iar boala are un debut precoce. De regulă în aceste forme de boală există o afectare primordială la nivelul rinichilor sau sistemului endocrin, astfel încât hipertensiunea este considerată *secundară*. Exemple de astfel de boli sunt: sindromul Liddle, sindromul Gordon, boala Cushing etc.

În majoritatea cazurilor (90%) există însă o etiologie multifactorială, factorii de mediu fiind relativ importanți în condițiile în care heritabilitatea în HTA variază în intervalul 20-40%. Aceste forme de boală cu debut după vârsta de 40 ani și se asociază cu complicații grave, precum: boala coronariană, insuficiența renală cronică, diabetul zaharat sau accidentele vascualre cerebrale. Această formă de boală este considerată *hipertensiune arterială esențială.*

Etiologia multifactorială a bolii a fost confirmată, atât de studiile gemenilor, cât și de studiile de asociere.

Identificarea genelor de risc este complicată de faptul că există numeroase gene ce controlează mai multe sisteme homeostatice, iar aceste gene sunt pe de o parte interconectate (numeroase relaţii de epistazie), iar pe de altă parte sunt în relaţie cu factorii de mediu. Genele candidat (cel puţin 100) controlează sistemul renină-angiotensină, sistemul adrenergic, sistemul kalicreină-kinină, sistemul steroidic, metabolismul şi homeostazia apei şi sodiului, respective tonusul şi structura vasculară. Principalii lòci de susceptibilitate sunt pe cromosomii 5, 10, 16 şi 17. Totuşi, este improbabilă acţiunea unei gene majore de susceptibilitate, iar fiecare genă implicată determină un efect mic ce se cumulează la efectul celorlalte gene, coroborat cu intervenţia factorilor nocivi de mediu.

Mai importante sunt genele implicate în sistemul renină-angiotensină: gena ADD1 (α-adducină, sensor al presiunii hidrostatice), gena AGT (pentru angiotensinogen, situată pe cromosomul 1q42-q43), gena pentru renină (pe cromosomul 1q32), gena ACE (pentru enzima de conversie a angiotensinei I, pe 17q23), gena AT1R (pentru receptorul I al angiotensinei, pe 3q21), gena CYP11B2 (pentru aldosteron-sintetază pe cromosomul 8q21), gena SCNN1B (pentru subunitatea-β a canalului de sodiu non-voltaj dependent tip 1 pe cromosomul 16p13-p12). Fiecare genă are mai multe variante alelice, care au efecte diferite asupra asupra tensiunii arteriale. De exemplu, la nivelul genei AGT au fost depistate două mutaţii: M235T şi T174M ce determină o creştere a transcripţiei genei AGT, ceea ce induce creşterea nivelului de angiotensină şi scăderea răspunsului vascular renal.

Factorii nocivi de mediu, reprezentaţi de aportul alimentar crescut de clorură de sodiu, sedentarism, stress, obezitate sau consumul cronic de alcool, au totuşi ponderea cea mai importantă. Acest aspect este dovedit, de exemplu de prevalenţa crescută a HTA la grupurile populaţionale de origine asiatică după emigrarea în SUA, ca urmare a schimbării modului de viaţă.

Riscul rudelor de gradul I al bolnavilor de HTA esenţială este de 3-4 ori mai mare decât în populaţia generală, dar evitarea factorilor nocivi de mediu poate limita gravitatea bolii şi îndepărta momentul apariţiei complicaţiilor.

Profilaxia HTA esenţiale constă în evitarea factorilor de mediu prin: reducerea aportului de clorură de sodiu, evitarea sedentarismului şi a excesului ponderal, limitarea stressului şi reducerea consumului de alcool.

Tratamentul în HTA esenţială este medicamentos, fiind posibilă utilizarea mai multor clase de substanţe active. Efectul unora dintre medicamente, precum inhibitorii de ACE sau blocanţii receptorilor AT, depinde şi de polimorfismul genelor, astfel încât în viitor la pacienţii cu anumite tipuri de mutaţii s-ar putea modula terapia medicamentoasă.

XIII. IMPLICAȚII GENETICE ÎN DEZVOLTARE

Dezvoltarea organismului, mai ales în perioada prenatală, este consecința unui proces deosebit de complex, controlat de o **multitudine de gene**, care interacționează specific pe mai multe căi, permițând evoluția produsului de concepție de la o singură celulă la o structură tridimensională perfect adaptată la condițiile variabile din mediul ambiant. Ținând cont de aceste aspecte, nu este de mirare că de multe ori unul sau mai multe procese se desfășoară eronat, determinând pierderea produsului de concepție. Astfel, aproximativ 1/5 din sarcinile evidente clinic se încheie prin avort spontan precoce, în jumătate din cazuri existând o anomalie cromosomică neviabilă, iar 4/5 dintre avortoni au cel puțin o anomalie congenitală majoră. Din nefericire, nu toate defectele de dezvoltare se încheie prin avort spontan, astfel încât **anomaliile congenitale** pot fi identificate la aproximativ 2,5% din nou-născuți.

Morfogeneza reprezintă quintesența proceselor structurale, fiziologice, biochimice și genetice care au lot în perioada embrionară și parțial în cea fetală. Intervenția factorilor genetici în aceste evenimente este deosebit de importantă, aspect reliefat, pe de o parte de numeroasele *modele de dezvoltare* experimentate pe animale, iar pe de altă parte de multitudinea de *boli umane*, în care s-a dovedit că există o perturbare a proceselor de dezvoltare. Pe parcursul acestui capitol, vor fi prezentate, atât o serie de elemente caracteristice proceselor normale de embriogeneză, cât și date referitoare la etiologia, manifestările clinice și profilaxia anomaliilor congenitale.

XIII.1. DEZVOLTAREA NORMALĂ

XIII.1.1. PROCESE IMPLICATE ÎN DEZVOLTARE

Intervenția genelor în dezvoltarea organismului este realizată pe baza unor procese celulare fundamentale. Principalele astfel de procese sunt: ***inducția embrionară, adeziunea intercelulară*** și ***apoptoza.***

XIII.1.1.1. INDUCȚIA EMBRIONARĂ

Dezvoltarea embrionară poate fi rezumată din punct de vedere celular în cinci cuvinte: ***creștere, proliferare, diferențiere, migrare*** și ***apoptoză.*** Pentru realizarea acestor procese este necesară o comunicare intercelulară, mediată de numeroase proteine, care acționează local sau la distanță. Această interdependență celulară, prin care o celulă poate modifica evoluția unei celule învecinate sau a alteia situată la distanță, poartă numele de **inducție sau semnalizare embrionară.**

Inducția embrionară poate fi de două tipuri: juxtacrină şi paracrină. ***Inducția juxtacrină*** apare, în condițiile în care o proteină produsă de o anumită celulă şi exprimată la nivelul membranei celulei respective, determină, via un receptor membranar, modificări în celulele adiacente prin activarea unei căi de semnalizare intracelulară. ***Inducția paracrină*** presupune eliberarea în mediul extracelular a unei molecule, care se fixează specific pe un receptor membranar al unei celule aflate la distanță, generând astfel o modificare a activității celulei respective.

În majoritatea cazurilor, inducția embrionară presupune următoarele etape (figura XIII.1): ataşarea mesagerului la porțiunea extramembranară a receptorului, modificarea conformației receptorului cu activarea domeniului intracelular, cu funcție kinazică, al receptorului, activarea unei căi de semnalizare intracelulară prin fosforilarea seriată a mai multor proteine intracelulare şi, în final, activarea tot prin fosforilare a unui factor nuclear transcripțional, ceea ce determină activarea specifică a uneia sau mai multor gene din genomul nuclear.

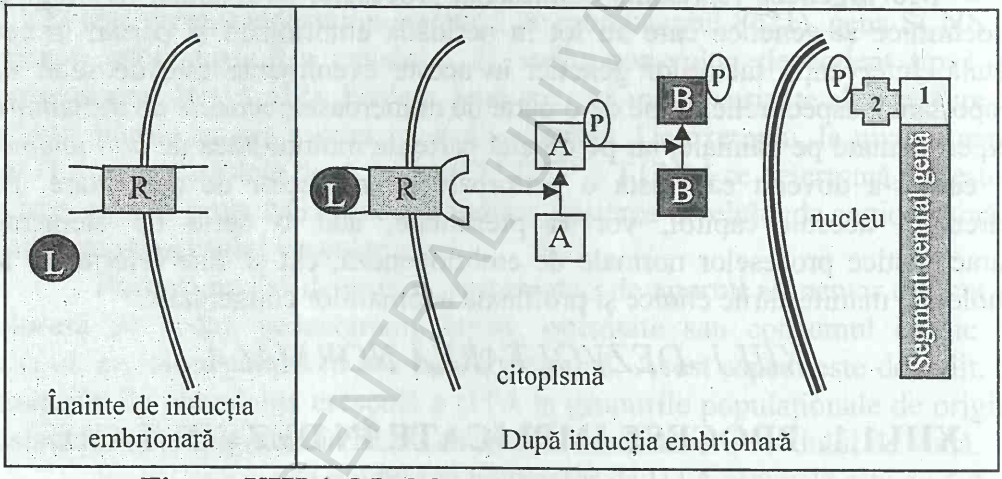


Figura XIII.1. Model general de inducție embrionară

L – ligand; R – receptor; A, B – proteine ale căii de semnalizare; P – fosforilare; 1 – regiunea promotor a genei; 2 – factor de transcripție

XIII.1.1.2. ADEZIUNEA INTERCELULARĂ

Adeziunea intercelulară este procesul care permite ca un ansamblu de celule învecinate să reacționeze în grup, fie pe parcursul organizării tisulare (diferențiere tisulară), fie în timpul migrării spre un alt câmp embrionar (de exemplu migrarea celulelor derivate din creasta neurală). Acest proces este asigurat de o serie de proteine, precum caderinele, integrinele sau selectinele, care acționează pe calea unei inducții embrionare juxtacrine.

Prin procesul de adeziune intercelulară rezultă joncțiunile celulare. Acestea pot fi ferme (de exemplu în cazul epiteliilor) sau pot forma canale, prin care pot trece molecule implicate în comunicarea intercelulară. Mutațiile genelor implicate în joncțiunile intercelulare pot cauza diverse boli genetice. Un exemplu îl constituie surditatea neurosenzorială, cea mai frecventă formă genetică de pierdere a auzului la populația caucaziană. Această maladie este cauzată de mutația genei conexinei 26, proteină joncțională implicată în formarea unor canale prin care potasiul ajunge la nivelul celulelor "păroase" ale cohleei, activându-le și generând un potențial electric în nervul acustic.

XIII.1.1.3. APOPTOZA

Apoptoza sau moartea celulară autoprogramată constituie un element cheie al dezvoltării embrionare. Acest fenomen este necesar pentru desfășurarea normală a canalizării unor organe (căi biliare, uretră etc.) pentru formarea unor cavități într-o anumită structură embrionară (de exemplu formarea urechii medii) sau pentru eliminarea unor resturi tisulare (de exemplu eliminarea membranelor interdigitale). Anomaliile genelor implicate în apoptoză pot conduce la anomalii congenitale, un exemplu în acest sens fiind sindactilia (nesepararea degetelor de la mâini sau picioare).

XIII.1.2. FAMILII DE GENE IMPLICATE ÎN DEZVOLTARE

Multe din genele implicate în dezvoltare derivă, prin duplicații repetate, dintr-un strămoș comun, astfel încât prezintă structuri și funcții similare, ceea ce permite gruparea lor în familii de gene. Importanța lor în menținerea constantă a informației genetice este atestată de faptul că structura acestor gene a fost conservată de-a lungul evoluției speciei. Această particularitate este importantă pentru elucidarea unor boli umane, generate prin mutații ale acestor gene, deoarece pot fi realizate modele ale maladiei la organismele inferioare produse prin mutații ale genelor înrudite.

XIII.1.2.1. FAMILIA DE GENE HOX

Familia genelor HOX umane cuprinde un număr de 37 de gene, care sunt localizate în patru domenii cromosomice: ***HOXA*** (pe cromosomul 7) ***HOXB*** (pe cromosomul 17) ***HOXC*** (pe cromosomul 12) și ***HOXD*** (pe cromosomul 2). Genele HOX au fost identificate inițial la *Drosophila melanogaster*, în condițiile în care mutațiile acestor gene generează modificări ***homeotice***[121].

[121] Homeoză – proces prin care un segment corporal este transformat în alt segment al corpului

Genele din familia HOX codifică factori de transcripţie implicaţi în controlul activităţii altor gene, ce intervin seriat în morfogeneză. Fiecare genă din familia HOX are o secvenţă nucleotidică, conservată pe parcursul evoluţiei speciilor, care conţine 183 de nucleotide. Acest segment de ADN codifică secvenţa de aminoacizi implicată în legarea la ADN, domeniu numit ***homeobox***. Ţinând cont că genele din familia HOX au structuri şi funcţii atât de apropiate, ele sunt considerate gene **paraloge**[122].

Genele din fiecare domeniu cromosomic HOX prezintă expresie secvenţială temporală şi spaţială. Astfel, genele HOXA şi HOXB intervin în segmentarea organismului pe axa cranio-caudală, în timp ce genele HOXA şi HOXD participă la diferenţierea segmentelor membrelor.

La specia umană, implicarea patologică a mutaţiilor genelor HOX este foarte redusă în contrast cu numărul şi mai ales importanţa funcţională a acestor gene. Practic au fost depistate doar trei entităţi clinice cauzate de mutaţii ale acestor gene. Acest fenomen poate fi explicat prin două ipoteze: ţinând cont de înrudirea funcţională a genelor HOX, mutaţia uneia dintre gene poate fi compensată de activitatea unei alte gene din acelaşi domeniu cromosomic sau, mult mai plauzibil, mutaţiile acestor gene sunt atât de grave, încât cauzează pierderea produsului de concepţie.

XIII.1.2.2. FAMILIA DE GENE PAX

Genele PAX (*paired box*) identificate iniţial, de asemenea, la *Drosophila melanogaster*, sunt gene implicate în segmentarea organismului. La om au fost identificate nouă astfel de gene, care sunt diseminate de-a lungul întregului genom nuclear.

Fiecare genă din această categorie codifică o proteină cu două domenii de fixare la ADN. Un prim domeniu este comun pentru toate cele nouă gene ale familiei. Cel de-al doilea domeniu proteic este identic cu domeniul HOX, pentru şapte dintre genele familiei PAX.

Spre deosebire de genele din familia HOX, genele familiei PAX pot suferi, atât mutaţii activatoare, cât şi mutaţii inactivatoare (tabelul XIII.1.). De exemplu, mutaţii activatoare ale genelor PAX2 şi PAX8 au fost identificate în tumora Wilms (nefroblastom).

Mutaţiile inactivatoare ale genei PAX2 au fost asociate cu apariţia colobomului[123]. Pe de altă parte, mutaţiile inactivatoare ale genei PAX6 cauzează anomalii de formare sau absenţa irisului.

---

[122] Gene paraloge – gene similare ca structură şi funcţie şi care derivă dintr-un singur strămoş comun

[123] Colobom – defect de închidere a fantei optice, ceea ce generează anomalii iriene, retiniene sau combinate

Tabelul XIII.1. Exemple de mutații ale genelor PAX

Genă	Locus	Loc de acțiune	Modificări patologice
PAX1	20p11	condrocite	anomalii costale și vertebrale
PAX2	10q24	creier, ochi, ureche, rinichi	Hipoplazie renală sau coloboma
PAX3	2q35	Creier, tub neural, creastă neurală	Sindrom Waardenburg tip I[124]
PAX4	7q32	Celule β-pancreatice	Diabet zaharat
PAX5	9p13	Celule precursoare ale limfocitelor B	Leucemie
PAX6	11p13	Creier, tub neural, ochi, hipofiză	Aniridie
PAX7	1p36	Miocite	rabdomiosarcom
PAX8	2q12-14	Tub neural, tiroidă	Hipotiroidism congenital
PAX9	14q12	Dinți, coaste, vertebre	hipodonție

XIII.1.3. CĂI DE DEZVOLTARE GENETICĂ

Dezvoltarea genetică a țesuturilor și organelor este condiționată de intervenția seriată a mai multor gene (și implicit a proteinelor codificate de acestea) în diverse procese de morfogeneză. Au fost identificate mai multe astfel de căi de dezvoltare, unul dintre acestea: **calea factorilor de creștere fibroblastică** fiind prezentată în continuare.

Factorii de creștere fibroblastică și receptorii acestor factori intervin, prin mai multe sisteme de semnalizare intracelulară, în diviziunea, diferențierea și migrarea celulară. În principiu, activarea unei astfel de căi presupune inițial formarea unui complex ce conține un factor de creștere fibroblastică, receptorul membranar al factorului respectiv și un proteoglicanc ce conține heparan-sulfat. Prin formarea acestui complex este inițiată o dimerizare și o fosforilare a reziduurilor intracelulare de tip tirozin-kinază conținute de fiecare receptor al unui factor de creștere fibroblastică. Astfel, tirozin-kinaza este activată și printr-o reacție în cascadă este transmis un semnal către anumite gene nucleare, modificând expresia genelor respective.

La specia umană au fost identificați 23 de factori de creștere fibroblastică (FGF – *Fibroblast Growth Factor)* și 4 receptori ai acestor factori (FGFR - *Fibroblast Growth Factor Receptor).*

Implicarea mutațiilor factorilor de creștere fibroblastică în patologia umană este limitată, fiind descoperită doar mutațiile genei factorului de creștere fibroblastică 23 (FGF23) în rahitismul rezistent la vitamina D (una din puținele afecțiuni cu transmitere dominantă legată de cromosomul X).

Cei patru receptori ai factorilor de creștere fibroblastică, prezintă o omologie structurală și funcțională importantă, diferențele dintre ei fiind legate de afinitatea de fixare a ligandului și de localizarea tisulară a fiecăruia. Fiecare receptor prezintă o regiune extramembranară la nivelul căreia se fixează ligandul, un domeniu transmembranar și un domeniu intracelular bipartit cu

[124] Vezi capitolul **Boli monogenice**

funcţie de tirozin-kinază. Mutaţiile genelor receptorilor factorilor de creştere fibroblastică au fost asociate cu diverse tipuri de boli umane (tabelul XIII.2.). Acestea prezintă pe de o parte pleiotropie relaţională, iar pe de altă parte eterogenitate clinică şi de locus.

Tabelul XIII.2. Exemple de mutaţii ale genelor receptorilor factorilor de creştere fibroblastică

Genă	Locus	Boală	Manifestare clinică
FGFR1	8p11	Sindrom Pfeiffer	Craniosinostoză asociată cu police şi haluce lăţite
FGFR2	10q26	Sindrom Apert	Craniosinostoză asociată cu sindactilie
		Sindrom Beare-Stevenson	Craniosinostoză asociată cu *cutis gyrata*
		Sindrom Crouzon	Craniosinostoză asociată cu protruzie oculară
		Sindrom Pfeiffer	Craniosinostoză asociată cu police şi haluce lăţite
FGFR3	4p16.3	Sindrom Crouzon	Craniosinostoză asociată cu protruzie oculară
		Sindrom Muenke	Craniosinostoză coronală
		Acondroplazie	Nanism rizomelic şi macrocefalie
		Hipocondroplazie	Nanism rizomelic
		Displazia tanatoforică	Nanism rizomelic, macrocefalie, deformaţii toracice, formă letală
FGFR4	5q35.1	Cancere	Sân, hipofiză, pancreas, creier, plămân

Toate mutaţiile idnetificate în genele receptorilor pentru factori de creştere firoblastică sunt mutaţii activatoare, care determină o creştere a semnalizării intracelulare, ceea ce generează o hiperexpresie genică. De exemplu, în cazul genei FGFR4, mutaţia specifică acondroplaziei induce o creştere a expresiei genice cu 20%, în timp ce mutaţiile din displazia tanatoforică se asociază cu o creştere a activităţii genice de 100%[125].

XIII.1.4. MODELE DE DEZVOLTARE GENETICĂ

Studiile de genetica dezvoltării încearcă a descifra mecanismele prin care proteinele codificate de genele de dezvoltare interacţionează complex , pe diferite căi de semnalizare, pentru a forma un organ sau sistem de organe. Cercetări recente au furnizat o serie de clarificări, dar până la elucidarea completă a acestor procese mai este cale îndelungată. În continuare, va fi prezentat atât modelul normal de dezvoltare a aparatului reproductiv la cele două sexe, cât şi unele din erorile care pot surveni pe parcursul acestui proces.

Sexualizarea constituie un domeniu care a fascinat omenirea încă de începuturile ei, dar de abia ultimii ani au adus o serie clarificări referitoarea la dezvoltarea gonadelor şi a organelor conexe. Sexualizarea constă în realizarea ansamblului de caractere morfologice, funcţionale şi psiho-comportamentale care contribuie la formarea şi fecundarea gameţilor, dezvoltarea gonadelor,

[125] În ambele situaţii, activarea căii de semnalizare intracelulară se face în absenţa ligandului

ductelor sexuale şi a organelor genitale externe, respectiv a dobândirii particularităților psiho-comportamentale aferente sexului căruia aparține individul. Toate aceste modificări survenite la vârste diferite au un singur scop: asigurarea unei reproduceri optime, prin care să poată fi transmise descendenților caracteristicile personale şi cele de specie.

Procesul normal de sexualizare este diferit la cele două sexe şi din punct de vedere didactic poate fi împărțit în două mari etape: **determinismul sexual** şi **diferențierea sexuală**.

Determinismul sexual se produce în embriogeneză şi cuprinde două etape: ***formarea sexului genetic*** (în momentul fecundării prin unirea gonosomului ovulului – X - cu gonosomul spermatozoidului – X sau Y) şi ***formarea sexului gonadic*** (transformarea progonadei bivalente în ovar sau testicul).

Diferențierea sexuală începe în perioada embrionară şi se termină după pubertate, când individul devine capabil de reproducere. Diferențierea sexuală cuprinde următoarele etape: formarea căilor genitale, formarea organelor genitale externe (ambele survenite prenatal) sexualizarea sistemului nervos central (începută prenatal şi încheiată postpubertar) şi sexualizarea secundară (concretizată la pubertate prin formarea caracterelor sexuale secundare sub acțiunea hormonilor sexuali produşi de gonade).

XIII.1.4.1. SEXUALIZAREA MASCULINĂ

Procesul normal de sexualizare masculină se desfăşoară în mai multe etape interconectate şi reglate de numeroşi factori genetici şi hormonali.

XIII.1.4.1.1. Determinismul sexual masculin

Prima etapă a diferențierii sexuale masculine survine în momentul fecundării, odată cu formarea sexului genetic XY. Primele evenimente ale sexualizării se desfăşoară în primele săptămâni de embriogeneză şi sunt comune la cele două sexe. Gonada primordială (progonada) este complet formată la sfârşitul săptămânii 6 de sarcină, fiind constituită din două elemente: cordoanele sexuale primitive (cu origine mezonefrotică) şi celulele germinale primordiale (cu origine ectodermală).

După această fază indiferentă sau ambisexuală, sub acțiunea unor gene de sexualizare de pe gonosomi (X şi Y), dar şi de pe autosomi au loc o serie de transformări embriologice complexe care duc la formarea testiculilor. La embrionul XY, diferențierea sexuală masculină este un proces activ, ce implică numeroase molecule (factori de transcripție, hormoni, receptori) care "comută" programul înnăscut de sexualizare pe direcție masculină[126].

[126] La mamifere modelul înnăscut de sexualizare este pe linie feminină şi implică o serie de procese pasive

La embrionii masculini, din progonadă, sub influenţa factorului de transcripţie, codificat de gena SRY, se formează în săptămânile 7-8 de gestaţie testiculii (tabelul XIII.3.). Gena SRY acţionează asupra regiunii medulare a cordoanelor sexuale primitive, determinând formarea celulelor Sertoli, care încep să producă hormon anti-müllerian (AMH – *Anti-Müllerian Hormone*). În continuare, celulele Sertoli formează cordoanele testiculare, din care la pubertate se vor constitui tubulii seminiferi.

Tabel XIII.3. Procese specifice determinismului şi diferenţierii sexuale normale masculină şi feminină

Structură embrionară	Sex masculin	Sex feminin
Progonade	Testiculi	Ovare
Ducte Wolff (mezonefrice)	Epididim Vase deferente, Prostata, Vezicule seminale	Regresie
Ducte Müller (paramezonefrice)	Regresie	Trompe uterine, Uter 1/3 superioară a vaginului
Tubercul genital	Penis, Glande peniene, Ţesutul erectil (corp cavernos şi corp spongios)	Clitoris
Pliuri urogenitale	Uretra peniană	Labiile mici
Bureletele labio-scrotal	Scrot	Labiile mari

În săptămâna a 8-a de sarcină, celulele mezenchimale din jurul cordoanelor se diferenţiază în celule Leydig, care încep sinteza de testosteron.

Pe parcursul vieţii fetale, sub acţiunea androgenilor, testiculii migrează din regiunea perinefrotică, ajungând la termen în scrot.

XIII.1.4.1.2. Diferenţierea sexuală masculină

Hormonii androgeni şi anti-müllerian, produşi de testiculii embrionari, determină modificări asupra ductelor Wolff şi Müller, respectiv ale sinusului urogenital, cu formarea căilor genitale şi a organelor genitale externe.

Formarea căilor genitale masculine este un proces activ care se desfăşoară sub acţiune hormonală. În săptămânile 8–13, testosteronul, acţionând local, determină diferenţierea ductelor Wolff în epididim, vase deferente prostată şi vezicule seminale. Pe de altă parte, în săptămânile 8-10, prin acţiunea locală a hormonului anti-müllerian, secretat de celulele Sertoli, ductele Mülleriene regresează (tabelul XIII.3.).

Formarea organelor genitale externe se realizează, în lunile 4-5 de sarcină din sinusul uro-genital, o structură ambivalentă, alcătuită dintr-o protuberanță mediană numită **tuberculul genital**, două pliuri mediale - **pliurile urogenitale** şi două pliuri laterale, ce constituie **bureletele labio-scrotale**. Sub influența *dihidrotestosteronului*, produs de testiculii fetali, tuberculul genital se alungeşte şi formează ***penisul***, pliurile urogenitale fuzionează, formând ***uretra peniană***, iar bureletele labio-scrotale cresc şi se unesc, formând ***scrotul*** (tabelul XIII.3.).

La naştere, pe baza aspectului organelor genitale externe, copilul este declarat de **sex masculin** şi va fi crescut conform tiparelor masculine, caracteristice societății din care face parte familia sa. Datorită influențelor externe, în jurul vârstei de 2-3 ani, copilul devine **conştient** că aparține sexului masculin, ceea ce va induce o serie de modificări psiho-comportamentale. **Sexualizarea psiho-comportamentală** se va finaliza postpubertar, ca urmare a modificărilor structurilor nervoase sub influența testosteronului produs de testiculi.

Totodată, la pubertate, sub acțiunea testosteronului se produce sexualizarea secundară: apariția pilozității sexuale (facială, tronculară, axilară, pubiană) îngroşarea vocii, saltul de creştere, dezvoltarea musculaturii, creşterea în dimensiuni a penisului, pigmentarea scrotului etc.

XIII.1.4.1.3. Controlul determinismului şi diferențierii masculine

Controlul determinismului şi diferențierii sexuale masculine este extrem de complex şi implică intervenția unei multitudini de factori.

Primul element al cascadei de evenimente care asigură sexualizarea masculină este intervenția factorului transcripțional codificat de gena SRY (*Sex determinig Region on the chromosome Y*) localizată pe brațul scurt al cromosomului Y (Yp11.3) în regiunea TDF (*testis determining factor*). Astfel, în prezența unui cromosom Y normal, indiferent de numărul de cromosomi X, se produce masculinizarea progonadei.

Gena SRY este o *genă master* care reglează transcripția altor gene. Principala acțiune a genei SRY se pare că constă în represia acțiunii genei *DAX-1* (implicată în formarea ovarelor), permițând activarea genei *SOX9*.

Gena SOX-9, localizată pe cromosomul 17, codifică o proteină înrudită cu SRY, având un domeniu HMG de legare la ADN. Această proteină dirijează procesul de organizare a cordoanelor testiculare, acțiune condiționată de o semnalizare pe calea WNT. În plus, gena SOX-9, în colaborare cu genele SF1 şi WT1, activează gena AMH care codifică hormonul anti-Müllerian. Mutațiile acestei gene sunt implicate în producerea *displaziei campomelice*, o boală care asociază anomalii scheletice cu inversiune sexuală.

Alături de gena SRY, în procesul de diferenţiere sexuală intervin un complex de gene, factori de transcripţie, hormoni şi receptorii acestora (tabelul XIII.4.). Unele din genele prezentate în tabelul XIII.4., precum *SF-1, WT1, LIM1, LHX9 şi EMX2,* codifică factori de transcripţie generali, care intervin şi în alte procese embrioanare. Mutaţiile acestor gene determină, atât anomalii gonadale, cât şi alte anomalii congenitale. De exemplu, mutaţia genei SF1 produce şi aplazie suprarenaliană, în timp ce mutaţiile genelor WT1 şi LIM1 determină aplazie renală (figura XIII.2.).

Tabelul XIII.4. Factori genetici implicaţi în dezvoltarea testiculilor

Genă	Localizare	Funcţia
LHX1	11p12-p13	Diferenţierea şi dezvoltarea craniului, ţesutului nervos şi limfatic şi a structurilor urogenitale
LHX9	1q31-q32	Activarea SF-1 în primordiile gonadale
EMX2	10q26.1	Dezvoltarea precoce a neocortexului şi a gonadelor
PAX2	10q24.3	Reglarea expresiei genei WT1
CBX2	17q25	Reglarea genelor homeotice
ATRX	Xq13	Repararea leziunilor ADN şi iniţierea transcripţiei
Igfr1	19p13.2 15q25-q26 1q21-q23	Metabolică, prolifere celulară
WT1	11p13	Reglare transcriptională şi posttranscriptională
SF-1	9q33	Stabilizarea mezodermului intermediar şi reglarea funcţiei genelor STAR, steroid hidroxilazei, aromatazei, AMH şi DAX-1
DAX 1	Xp21.3	Antagonizează efectele SRY

Diferenţierea celulelor Leydig din celulele mezenchimale din jurul cordoanelor testiculare este un proces controlat de mai multe gene, printre care şi genele AMH şi SF1. Alte gene implicate în dezvoltarea testiculelor sunt DMRT1, FGF9 sau CBX2, aspect atestat de faptul că mutaţiile acestor gene produc inversiune sexuală.

Diferenţierea ductelor Wolffiene în căi genitale masculine se face sub acţiunea testosteronului, secretat de celulele Leydig, după activarea acestora de către hCG şi apoi al LH-ului fetal. Acţiunea testosteronului este condiţionată de legarea acestuia de receptorul nuclear corespunzător, ceea ce duce la activarea unor factori de transcripţie care se fixează la promotorul unor gene ţintă necunoscute încă.

Regresia ductelor Mülleriene este indusă de hormonul anti-müllerian, un hormon glicoproteic de tip TGF-β, secretat de celulele Sertoli. Acţiunea AMH implică fixarea la un receptor specific – AMHR (*Anti-Müllerian Hormone Receptor*) - prezent pe celulele ductelor mülleriene. Prin formarea

complexului AMH-AMHR se induce involuția celulelor ductelor mülleriene prin apoptoză. Mutațiile genelor AMH şi AMHR determină persistența derivatelor mülleriene (trompe uterine, uter, porțiunea superioară a vaginului) la persoane de sex masculin.

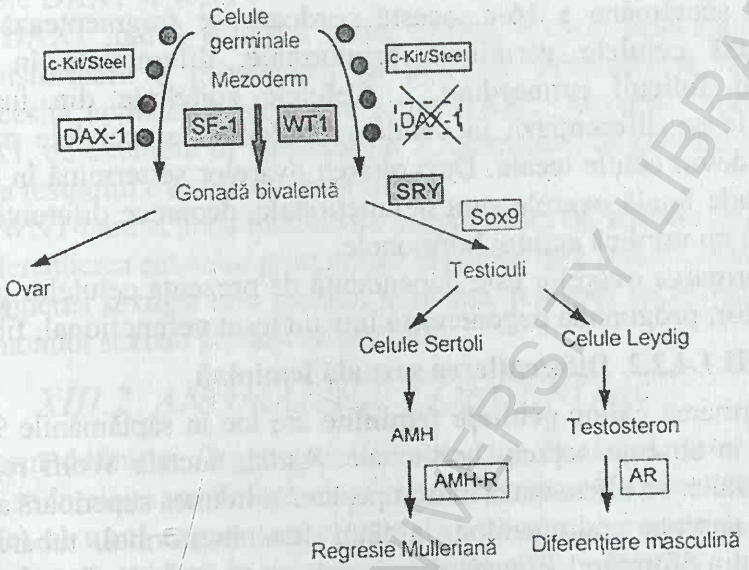


Figura XIII.2. Factori genetici implicați în determinismul sexual

Formarea organelor genitale externe din sinusul urogenital este indusă de dihidrotestosteron, produs prin conversia testosteronului fetal de către *5α-reductaza 2*. Dihidrotestosteronul acționează asupra genelor țintă prin intermediul unui receptor pentru androgen, codificat de o genă situată Xq11. Mutațiile la nivelul genei receptorului pentru androgen cauzează sindromul de insensibilitate la androgeni, care poate fi completă (sindromul Morris)[127] sau parțială.

Migrarea testiculilor din zona perinefrotică în punga scrotală este controlată de hormonul *insulin-like* 3 (InsL3) produs de celulele Leydig. Mutațiile genei ce codifică InsL3, determină criptorhidia bilaterală. Alte gene implicate în coborârea testiculară sunt HOX10 şi HOX11.

XIII.1.4.2. SEXUALIZAREA FEMININĂ

Sexualizarea feminină prenatală este un proces înnăscut, care se desfăşoară pasiv, fără intervenție hormonală.

XIII.1.4.2.1. Determinismul sexual feminin

Determinismul sexual debutează în momentul fecundării, când prin asocierea cromosomilor X matern şi patern rezultă sexul genetic XX,

[127] Vezi capitolul **Bolile monogenice**

caracteristic organismelor feminine. După săptămâna a 10-a de sarcină, în absența testosteronului, începe **dezvoltarea ovarelor** prin degenerarea cordoanelor sexuale primare şi transformarea mezoteliului crestei germinale în cordoane sexuale secundare corticale.

În săptămâna a 16-a, aceste cordoane se fragmentează în grămezi, înglobează celulele germinale primordiale, diferențiate în ovogonii[128], devenind foliculi primordiali[129]. Celulele epiteliale din jurul celulelor germinale se diferențiază în celule granuloase, iar celulele mezenchimale externe devin celule tecale. Dezvoltarea ovarelor se termină în luna V-a, iar în perioada fetală ovarele sunt nefuncționale, deoarece diferențierea sexuală feminină nu implică acțiuni hormonale.

Formarea ovarelor este dependentă de prezența celulelor germinale. În absența lor, progonada degenerează într-un țesut nefuncțional, fibros[130].

XIII.1.4.2.2. Diferențierea sexuală feminină

Formarea **căilor genitale feminine** are loc în săptămânile 9-13, în mod spontan, în absența acțiunii hormonale. Astfel, ductele Wolff regresează, iar ductele Müller se diferențiază în trompe, uter şi treimea superioară a vaginului.

În absența androgenilor, la fătul feminin normal, tuberculul genital creşte puțin, formând ***clitorisul***, sinusul urogenital rămâne deschis şi se constituie ***septul vezicovaginal***, la nivelul căruia uretra se deschide anterior iar vaginul posterior. Pliurile urogenitale nu fuzionează şi formează ***labiile mici,*** în timp ce din bureletele labioscrotal se dezvoltă ***labiile mari*** (tabelul XIII.3.).

La naştere, pe baza aspectului organelor genitale externe, copilul este declarat de **sex feminin** şi va fi crescut conform tiparelor feminine, caracteristice societății din care face parte familia sa.

Datorită influențelor externe, în jurul vârstei de 2-3 ani, copilul devine **conştient** că aparține sexului feminin, ceea ce va induce o serie de modificări psiho-comportamentale.

Sexualizarea psiho-comportamentală se va finaliza postpubertar, ca urmare a modificărilor structurilor nervoase sub influența estrogenilor şi progesteronului produs de ovare.

Totodată, la pubertate, sub acțiunea hormonilor sexuali feminini se produce sexualizarea secundară: dezvoltarea glandelor mamare, apariția pilozității sexuale (axilară, pubiană) modificările ciclice ale mucoasei uterine (menstruațiile) saltul de creştere, pigmentarea labiilor etc.

---

[128] Diviziunea ovogoniilor este blocată în dichtioten până după pubertate

[129] Formarea foliculilior primordiali se termină la 6 luni după naştere

[130] O astfel de modificare este caracteristică sindromului Turner, determinat de monosomia X

XIII.1.4.2.3. Controlul determinismului şi diferenţierii feminine

Reglarea genetică a formării ovarelor este mai puțin cunoscută decât cea a testiculelor. Se cunosc doar câteva gene cu rol major în acest proces, precum genele DAX1 şi WNT4.

Gena DAX1 inhibă acțiunea genei SOX9, a cărei principală funcție este de transformare a progonadei în testiculi. Dezvoltarea normală a ovarelor necesită acțiunea bialelică a genei DAX1. Absența uneia dintre alelele DAX1, de exemplu în monosomia X, determină disgenezie ovariană, cu înlocuirea țesutului ovarian cu țesut fibros.

Gena WNT4 are acțiune inhibitoare asupra căilor de semnalizare celulară ce permit diferențierea celulelor primordiale gonadice spre celule Leydig.

Diferențierea sexuală este spontan feminină, procesul depinzând doar de absența hormonilor sexuali produşi de testiculi.

XIII.2. ANOMALIILE CONGENITALE

Conform definiției Organizației Mondiale a Sănătății, prin anomalie congenitală se înțelege **un defect morfologic, structural (macroscopic sau microscopic) al unui organ sau regiune anatomică, prezent la naştere, chiar dacă nu este evident la momentul ontogenetic respectiv.**

Anomaliile congenitale reprezintă o problemă majoră de sănătate publică, în condițiile în care au o frecvență ridicată (3-5% din nou-născuți), sunt grave, generează handicapuri şi există posibilități de profilaxie.

XIII.2.1. CLASIFICAREA ANOMALIILOR CONGENITALE

Clasificarea anomaliilor congenitale este ***dificilă***, existând mai multe sisteme de clasificare, în raport cu următoarele criterii: ***severitate, incidență, patogenie, manifestare clinică.***

În raport cu **severitatea**, există patru categorii de anomalii congenitale: ***letale, majore, medii*** şi ***minore.*** Anomaliile ***letale*** (de exemplu agenezia renală bilaterală) cele ***majore*** (de exemplu focomelia) şi cele ***medii*** (de exemplu sindactilia) formează în ansamblu **anomaliile congenitale majore**, deoarece impun acordarea de îngrijiri medicale. Deşi, anomaliile congenitale ***minore*** (de exemplu, hipopigmentare cutanată, occiput turtit, urechi jos inserate) cauzează doar probleme cosmetice, ele pot avea o semnificație clinică deosebită în anumite situații. Astfel, prezența a mai mult de trei anomalii congenitale minore este asociată, în mai mult de 90% din cazuri, cu existența unei anomalii congenitale majore, care poate avea consecințe nefaste asupra evoluției bolii. În aceste condiții, identificarea mai multor anomalii minore poate constitui un prim pas spre depistarea de anomalii majore.

În funcție de **incidență**, anomaliile congenitale pot fi grupate în: ***anomalii congenitale cu incidență mare*** (>1‰) ***anomalii congenitale cu incidență moderată*** (0,1-0,99‰) ***anomalii congenitale rare*** (0,01-0,099‰) şi ***anomalii congenitale foarte rare*** (<0,01‰).

Clasificarea **patogenică** a anomaliilor congenitale permite împărțirea acestora în: ***malformații, disrupții, deformații*** şi ***displazii***.

În raport cu **manifestările clinice**, anomaliile congenitale pot fi ***izolate*** şi ***multiple***. Anomaliile **izolate**, pot fi grupate în: ***unice*** şi ***complexe*** (*secvențe* şi *defecte de câmp embrionar*) iar anomaliile **multiple**, pot fi clasificate în: ***sindroame, asociații neîntâmplătoare*** şi ***asociații întâmplătoare***.

Din punct de vedere practic, clasificările – *patogenică* şi *clinică* – sunt cele mai importante, deoarece permit stabilirea prognosticului, a conduitei practice şi nu, în ultimul rând, a riscului de recurență al afecțiunii.

XIII.2.1.1. CLASIFICAREA PATOGENICĂ A ANOMALIILOR CONGENITALE

În raport cu mecanismul de producere, anomaliile congenitale pot fi grupate în: malformații, disrupții, deformații şi displazii. Malformațiile şi displaziile sunt considerate **embriopatii**, deoarece se produc precoce în timpul sarcinii şi se caracterizează printr-un defect primar de morfogeneză. Disrupțiile şi deformațiile constituie **fetopatii**, deoarece se produc în partea a doua a sarcinii şi se caracterizează printr-un defect secundar de morfogeneză, care afectează o structură embrionară normal formată.

XIII.2.1.1.1. Malformațiile congenitale

Malformațiile sunt anomalii congenitale produse printr-un proces ***primar, intrinsec şi precoce de dezvoltare anormală***. Malformațiile pot afecta un organ, o parte a unui organ sau o regiune anatomică cu origine embrionară comună. Practic, în cazul unei malformații, *potențialul de dezvoltare* a organului afectat a fost ***eronat*** de la început. Apariția unei malformații poate fi consecința unei *diferențieri incomplete* (de exemplu, sindactilia) sau a unei *diferențieri deficitare* (de exemplu, polidactilia).

Clinic, malformațiile se clasifică în *izolate* (unice sau complexe) şi *multiple*, iar în raport cu severitatea, malformațiile pot fi *majore* sau *minore*.

Malformațiile apar precoce în embriogeneză - zilele 15-60 de sarcină – fiind definitive şi greu de tratat sau recuperat.

În practica medicală este importantă diferențierea dintre o malformație şi o deformație sau o disrupție. Malformațiile sunt anomalii congenitale grave, cu potențial invalidant, care deseori nu beneficiază de tratament şi în majoritatea cazurilor au cauze genetice (multifactoriale sau cromosomice) asociate cu un risc de recurență crescut. Deformațiile au un prognostic bun, pot fi corectate

chirurgical (uneori chiar şi spontan) şi au cauze exogene, asociate cu un risc de recurență nesemnificativ. Disrupțiile au, la fel ca şi malformațiile, un prognostic nefavorabil şi deseori nu pot fi corectate, dar în schimb sunt consecința acțiunii unor factori teratogeni, ceea ce conduce la un risc de recurență nesemnificativ. Astfel, confuzia între o malformație şi o deformație/disrupție poate genera erori de diagnostic, prognostic şi sfat genetic.

XIII.2.1.1.2. Displaziile congenitale

Displaziile constau într-o ***organizare anormală*** a celulelor în țesuturi. Astfel, în displazii, histiogeneza este deficitară, iar anomalia congenitală este prezentă în toate organele în care țesutul respectiv este prezent.

De exemplu, în cazul sindromului Marfan[131], există modificări ale tuturor structurilor ce conțin fibrilină (sistem osteoarticular, sistem cardio-vascular, sistem ocular) în timp ce în *osteogenesis imperfecta*[132] există modificări la nivelul tuturor organelor ce conțin colagen de tip α. În unele situații, displaziile pot genera modificări secundare la nivelul organului afectat, datorită perturbării organizării sau funcționării altor celule normale de altfel.

Majoritatea displaziilor sunt cauzate de **mutații genice** cu transmitere monogenică şi au un risc de recurență **mare**.

Displaziile sunt anomalii congenitale ce ***nu beneficiază de tratamente specifice***, deoarece țesutul din organul (organele) afectat(e) este anormal.

XIII.2.1.1.3. Disrupțiile congenitale

Disrupția este un defect morfologic care rezultă printr-un proces de distrugere ***secundară***, ***extrinsecă*** şi ***tardivă*** a unui organ sau regiuni anatomice normal formate inițial. Uneori, disrupția este consecința interferării cu un proces normal de dezvoltare. De obicei, disrupția survine în perioada fetală şi nu are o cauză genetică. Principalii factori etiologici incriminați sunt: factorii ***fizici*** (compresiile mecanice prin bride amniotice) agenții ***chimici teratogeni*** (talidomida) factorii ***metabolici*** (boli materne ca diabetul zaharat sau fenilcetonuria) factorii ***infecțioşi*** (rubeola) factorii ***locali*** (ruptura prematură de membrane, ischemia, hipertensiunea arterială majoră).

Disrupția nu e genetică, de aceea au un risc de recurență nesemnificativ, dacă se elimină agentul cauzal. În schimb, au potențial invalidant şi nu se corectează spontan, necesitând intervenții chirurgicale complexe.

XIII.2.1.1.4. Deformațiile congenitale

Deformațiile sunt anomalii congenitale caracterizate prin modificări de formă, mărime sau poziție a unei părți a corpului, produsă de forțe

[131] Vezi capitolul **Gena – unitate de structură, funcție şi mutație**

[132] Vezi capitolul **Boli monogenice**

mecanice, după ce regiunea respectivă s-a format normal. Deformaţiile apar tardiv, în partea a doua a sarcinii, constituind fetopatii. Cauzele deformaţiilor sunt agenţii exogeni, mai rar cei endogeni, care conduc la o absenţă sau scădere a mişcărilor fetale, la compresia fătului cu mularea şi deformarea unor structuri anatomice dezvoltate normal.

Un exemplu de deformaţie este piciorul strâmb congenital care poate fi consecinţa unei compresii intrauterine prin malformaţie uterină maternă, macrosomiei fetale, oligohidramniosului, insuficienţă utero-placentară etc.

Rareori, deformaţiile sunt generate de factori intrinseci. De exemplu, deformaţii pot apare şi prin reducerea mişcărilor fetale, secundare unei hipotonii musculare în afecţiuni ale sistemului nervos central.

Severitatea deformaţiilor este redusă şi în majoritatea cazurilor pot fi corectate ortopedic sau chirurgical.

În condiţiile în care deformaţiile sunt determinate de factori extrinseci, riscul de recurenţă este foarte mic.

XIII.2.1.2. CLASIFICAREA CLINICĂ A ANOMALIILOR CONGENITALE

Din punct de vedere **clinic**, anomaliile congenitale pot fi ***izolate*** sau ***multiple***.

XIII.2.1.2.1. Anomaliile congenitale izolate

Anomaliile congenitale izolate sunt defecte morfologice generate de o ***singură eroare de morfogeneză***, care, ulterior, poate cauza anomalii secundare în acelaşi organ sau regiune anatomică. În majoritatea cazurilor, anomaliile congenitale izolate au determinism multifactorial. Cele mai frecvente anomalii congenitale izolate sunt prezentate în tabelul XIII.5.

În raport cu **mecanismul de producere** anomaliile congenitale izolate pot fi grupate în două tipuri de defecte morfologice: ***defecte ale câmpului de dezvoltare*** şi ***secvenţe***.

Câmpul de dezvoltare reprezintă o regiune embrionară, a cărei evoluţie este condiţionată de intervenţia unui singur proces de inducţie embrionară. Astfel, regiunea se dezvoltă şi funcţionează unitar, ducând la formarea unor structuri anatomice complexe sau multiple.

Embriogeneza umană pleacă de la o masă de celule pluripotente, ce reprezintă câmpul primar de dezvoltare, iar ulterior evoluează spre diferenţiere, rezultând câmpuri de dezvoltare secundare, care conţin celule capabile să se organizeze într-un anumit organ. Astfel, pot exista ***defecte de câmp primar***, când anomalia a survenit în blastogeneză şi ***defecte de câmp secundar***, dacă anomalia este produsă în timpul organogenezei.

Tabelul XIII.5. Incidența anomaliilor congenitale izolate

Anomalia	Frecvența
Criptorhidie	1/30 (doar bărbați)
Anomalie congenitală de cord	1/150
Picior strâmb congenital	1/300 (♂>♀)
Stenoză pilorică	1/300 (♂>♀)
Defecte de tub neural	1/500 (♀>♂)
Hernie ombilicală	1/500
Hipospadias	1/1000(doar ♂)
Luxație congenitală de șold	1/1500 (♀>♂)
Polidactilie	1/1500 (♂>♀)
Despicătură palatină	1/2000 (♀>♂)

În funcție de numărul de organe afectate, defectul de câmp de dezvoltare poate fi **monotopic** sau **politopic**. ***Defectul de câmp monotopic*** interesează un singur organ şi poate fi reprezentat de anomalii congenitale **unice** (o singură anomalie) sau **complexe** (mai multe anomalii ale aceluiaşi organ). ***Defectele de câmp politopic*** cuprind anomalii multiple care derivă din acelaşi câmp de dezvoltare. De exemplu, holoprozencefalia este un defect politop, generat de tulburarea migrării celulelor mezodermului precordal, din care se formează creierul anterior şi structurile mediale ale feței. Defecte de dezvoltare ale acestui câmp embrionar determină apariția unui spectru clinic ce variază între forme fruste (de exemplu, incisiv superior central unic) şi forme foarte grave (de holoprozencefalie alobară, cu ciclopie, proboscis, lipsa lobilor olfactivi şi a nervilor optici, despicătură labială/palatină).

Secvențele de anomalii congenitale caracterizate prin defecte ce interesează mai multe organe din aceeaşi regiune anatomică (sau chiar situate la distanță) elementul comun fiind existența unei anomalii primare, care ulterior determină aparția de anomalii secundare.

Un exemplu de secvență este secvența Pierre Robin. Anomalia primară este reprezentată de micrognație. Prezența unui maxilar inferior de dimensiuni reduse se asociază cu microstomie. În condițiile, în care limba este normală, aceasta este ascensionată şi împiedică unirea mugurilor axilari, ceea ce conduce la apariția unei despicături palatine.

XIII.2.1.2.2. Anomaliile congenitale multiple

Anomaliile congenitale multiple sunt tulburări de dezvoltare caracterizate prin ***mai multe erori de morfogeneză***, ce afectează organe sau sisteme de organe diferite. În categoria anomaliilor congenitale multiple sunt incluse trei tipuri de afecțiuni: ***sindroame plurimalformative, asociații de anomalii congenitale şi asociații întâmplătoare de anomalii congenitale multiple.***

Anomaliile congenitale multiple constituie un sindrom plurimalformativ, în condiţiile în care anomaliile sunt asociate constant şi specific, ceea ce permite stabilirea unei baze clinice comune şi au o etiologie sau mecanism comun de producere. În raport cu etiologia, sindroamele plurimalformative pot fi împărţite în sindroame cromosomice (Down, Klinefelter, Patau etc.) sindroame monogenice (Marfan, Moon-Bardet-Biedl etc.) sindroame teratogene (alcool fetal, rubeolic etc.) şi sindroame recunoscute clinic dar a căror cauză nu e încă precizată.

În multe situaţii, unele anomalii congenitale multiple se asociază frecvent, fără a putea fi reunite într-un sindrom plurimalformativ. Asociaţia reprezintă prezenţa neântâmplătoare a două sau mai multe anomalii congenitale izolate sau multiple, care nu pot fi încadrate într-un defect politopic, secvenţă sau sindrom. Un exemplu de asociaţie de anomalii congenitale este asociaţia VACTERL, caracterizată prin prezenţa concomitentă de anomalii vertebrale, anomalii anale, anomalii cardiovasculare, fistulă traheo-esofagiană, anomalii esofagiene, anomalii renale şi anomalii ale membrelor.

Cunoaşterea existenţei asociaţiilor de anomalii congenitale este importantă din punct de vedere practic, deoarece după identificarea unei anomalii caracteristice unei asociaţii, se impune căutarea celorlalte anomalii specifice asociaţiei. Astfel, pot fi depistate şi corectate anomalii viscerale inaparente, dar cu potenţial evolutiv grav.

Multe dintre anomalii congenitale multiple nu pot fi încadrate nici în sindroame şi nici în asociaţii, fiind probabil rezultatul combinaţiei întâmplătoare de anomalii cu frecvenţă individuală mare.

XIII.2.2. ETIOLOGIA ANOMALIILOR CONGENITALE

Anomaliile congenitale sunt determinate de cauze genetice (~50% din cazuri) cauze ecologice (<10% din cazuri) şi cauze necunoscute (~40% din cazuri) (tabelul XIII.6.). Recunoaşterea cauzei unei anomalii congenitale este importantă, pe de o parte pentru calcularea riscului de recurenţă şi acordarea unui sfat genetic corect, respectiv pentru adoptarea unor măsuri adecvate de profilaxie primară sau secundară a anomaliei congenitale. Uneori, identificarea cauzelor este dificilă datorită eterogenităţii etiologice, deoarece aceeaşi anomalie congenitală poate fi determinată de cauze diferite.

XIII.2.2.1. CAUZELE GENETICE ALE ANOMALIILOR CONGENITALE

Factorii genetici care pot cauza anomalii congenitale sunt reprezentaţi de mutaţii genomice, cromosomice sau genice.

Mutațiile genomice și cromosomice survin în meioză sau mitoză. Erorile survenite în cursul diviziunilor celulare conduc la apariția de anomalii cromosomice care pot fi numerice sau structurale. Anomaliile cromosomice neechilibrate (numerice sau structurale) se caracterizează prin dezechilibre genice, concretizate printr-o morfogeneză eronată și apariția de anomalii congenitale. Ponderea anomaliilor cromosomice neechilibrate în apariția anomaliilor congenitale este de aproximativ **10-15%** din total

Tabel XIII.6. Cauzele anomaliilor congenitale

Cauza	Incidența %
Genetică	**15-25**
- cromosomică	10-15
- monogenică	2-10
Multifactorială	**20-25**
Cauze din mediu extern	**8-12**
- boli materne	6-8
- cauze uterine/placentare	2-3
- teratogeni	0.5-1
Sarcină gemelară	0.5-1
Necunoscute	**40-60**

Majoritatea anomaliilor cromosomice neechilibrate sunt ***neviabile*** și determină ***pierderea produsului de concepție***. De altfel, aproximativ 50% din totalul avorturilor din primul trimestru au o cauză cromosomică (trisomie sau monosomie compeltă sau parțială, poliploidie etc.).

Anomaliile cromosomice neechilibrate ***viabile*** determină o asociere specifică de anomalii congenitale multiple ce poate fi încadrată într-un ***sindrom***: *Down* (trisomie 21) *Patau* (trisomie 13) *Turner* (monosomie X) *Edwards* (trisomie 18) *cri du chat* (monosomie parțială 5p) etc[133].

Unele anomalii congenitale sunt determinate de **mutația unei singure gene** sau perechi de gene. Modul de transmitere al mutației poate fi dominant sau recesiv, autosomal sau legat de cromosomul X[134]. Mutațiile monogenice sunt răspunzătoare pentru circa 7.5% din anomaliile congenitale.

În unele situații, mutațiile monogenice determină anomalii congenitale izolate, afectând morfogeneza unui singur organ (de exemplu, există forme de microcefalie cu transmitere recesivă autosomală) sau a unui câmp de dezvoltare (de exemplu, unele forme de focomelie[135] au o transmitere dominant autosomală).

---

[133] Vezi capitolele **Variabilitatea genetică** și **Bolile cromosomice**

[134] Vezi capitolul **Bolile monogenice**

[135] Focomelie – anomalie congenitală caracterizată prin absența segmentelor intermediare ale membrelor și inserția mâinilor și/sau picioarelor la nivelul rădăcinii membrului respectiv

În alte cazuri, mutaţia genică survine în gene care controlează sinteza embriogeneza mai multor organe şi ţesuturi. Consecinţa acestor mutaţii este producerea de anomalii congenitale multiple cum ar fi: sindromul oro-facio-digital (asociază anomalii ale cavităţii bucale, feţei şi degetelor) sindromul Waardenburg tip 1[136], sindromul Holt-Oram (asociază hipoplazia policelui, aplazie radială si cardiopatie congenitală).

Aproximativ 1/4 din anomaliile congenitale au un **determinism multifactorial**. În majoritatea cazurilor, aceste anomalii sunt izolate (de exemplu, anomalii congenitale cardiace, defectele de tub neural, despicătura labio-palatină). În aceste situaţii, factorii genetici, reprezentaţi de mutaţiile mai multor gene (ereditate poligenică) determină o vulnerabilitate particulară la acţiunea unor factori teratogeni din mediu.

Apariţia anomaliilor congenitale este condiţionată de cumularea mutaţiilor în mai multe gene şi intervenţia factorilor teratogeni (ereditate multifactorială cu prag).

XIII.2.2.2. CAUZELE ECOLOGICE ALE ANOMALIILOR CONGENITALE

Factorii nocivi din mediu pot cauza prin diverse mecanisme defecte de morfogeneză. Aceşti factori sunt numiţi **teratogeni** şi prezintă capacitatea de a traversa placenta, influenţa dezvoltarea embrionului/fătului şi determina (direct sau indirect) o anomalie congenitală. Astfel, un agent teratogen este un factor care interferă organogeneza şi determină anomalii congenitale la fătul expus. Anomaliile congenitale determinate de agenţii teratogeni constituie **5-8%** din totalul anomaliilor congenitale.

Studiile de teratogeneză experimentală, efectuate în ultimii ani, au permis elucidarea a numeroase aspecte referitoare la mecanismul de acţiune a numeroase substanţe teratogene. Totuşi, majoritatea agenţilor teratogeni sunt doar parţial şi insuficient cunoscuţi, fiind imposibilă o prevenţie eficientă.

Agenţii teratogeni pot determina anomalii congenitale prin mai multe **procese patogenice**: ***alterarea creşterii tisulare*** (hiperplazie, hipoplazie, asincronisme de creştere) şi a ***diferenţierii celulare***, *inducerea apoptozei.*

Efectele agentului teratogen asupra fătului depind de mai mulţi factori: tipul agentului, doza, timpul de expunere, perioada în care acţionează, susceptibilitatea gazdei şi interacţiunea cu alţi factori de mediu.

De maximă importanţă pentru efectul teratogen este **perioada** în care acţionează agentul respectiv. Astfel, se consideră că orice intervenţie în primele stadii ale embriogenezei (până în a 15 zi de sarcină), fie poate fi corectată complet, iar copilul va fi neafectat, fie determină pierderea sarcinii

[136] Vezi capitolul **Boli monogenice**

(așa-numita lege „*tot sau nimic*"). Perioada critică, din punct de vedere al unei morfogeneze anormale, este cea dintre a 15-a și a 60-a zi de sarcină, deoarece în această perioadă se formează majoritatea organelor. Anomaliile survenite în acest interval sunt considerate *embriopatii*. După luna a II-a de sarcină se produc anomalii secundare de morfogeneză, considerate *fetopatii*.

Un alt aspect important la teratogeneză este acela că diferiți agenți teratogeni produc același tip de malformații dacă acționează în aceeași perioadă de dezvoltare embrionară. Această asociere malformativă este concordantă cu orarul de dezvoltare embrionară, caracterizat prin formarea concomitentă a mai multor structuri embrionare (figura XIII.3.).

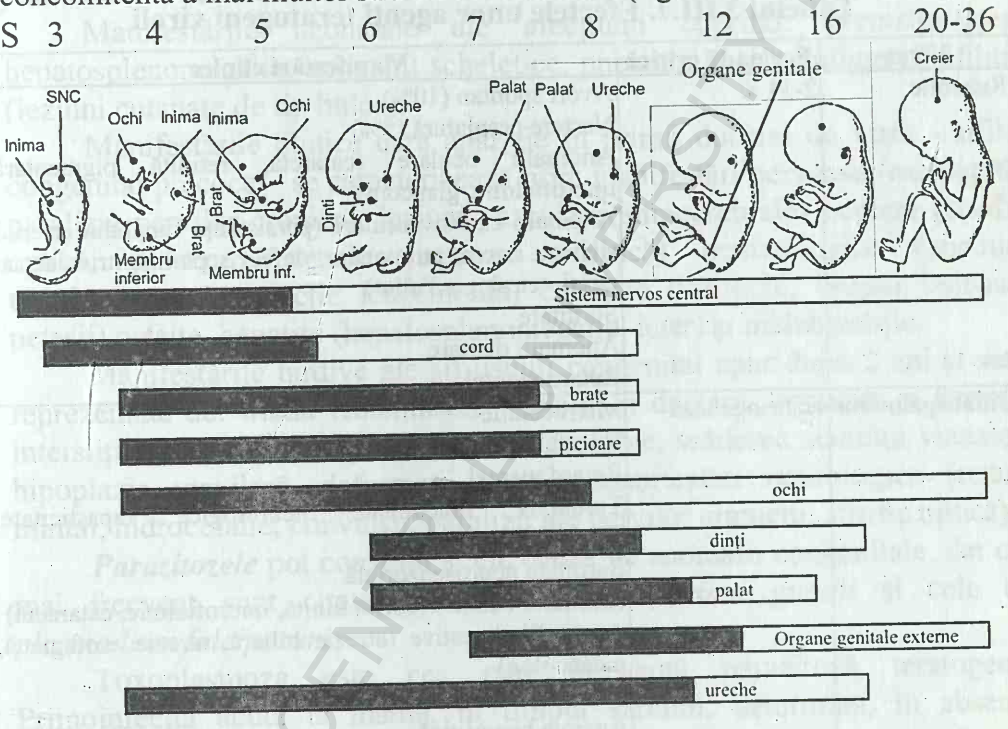


Figura XIII.3. Efectele agenților teratogeni în raport cu orarul embrionar
■ efect major; □ efect minor

De exemplu, un teratogen care acționează în săptămâna 5 de sarcină va cauza anomalii grave la nivelul sistemului nervos central, al cordului, membrelor, ochilor și urechilor. Același teratogen dacă intervine în embriogeneză în săptămâna 8 va afecta major: ochii, urechile, cavitatea bucală și organele genitale.

Factorii teratogeni pot fi: ***infecțioși***, ***fizici***, ***chimici*** (toxice și medicamente) și ***metabolici materni***.

XIII.2.2.2.1. Factorii teratogeni infecţioşi

Agenţii infecţioşi care pot afecta fătul, sunt cunoscuţi de mulţi ani, includ ***virusuri, bacterii şi paraziţi*** şi sunt răspunzători pentru **~2%** din anomaliile congenitale.

Agenţii teratogeni infecţioşi pot determina: moarte fetală, întârziere în creşterea intrauterină, anomalii congenitale, retard mintal.

Virusurile teratogene (tabelul XIII.7.) sunt reprezentate de: virusul rubeolic, virusul citomegalic, virusul herpes simplex ,virusul Varicella-Zoster, virusul HIV, virusul hepatitei B şi virusul hepatitei C.

Tabelul XIII.7. Efectele unor agenţi teratogeni virali

Virus	Perioadă critică	Manifestări clinice
Rubeolic	2-11 s.	Avort spontan (10%) Naştere prematură (5%) Anomalii oculare (catarctă, retinită pigmentară, microftalmie, glaucom) Anomalii cardiovasculare (persistenţa canalului arterial, stenoza arterei pulmonare, defect septal ventricular sau atrial, tetralogie Fallot) Surditate Anomalii dentare Retard mental
Citomegalovirus	embriogeneză	Microcefalie Encefalită cu calcificări periventriculare Retard mental Tulburări funcţionale neurologice (spasticitate, hipotonie, convulsii) Surditate neurosenzorială Anomalii oculare (corioretinită, microftalmie, cataractă) Anomalii digestive (atrezie biliară, atrezie esofagiană, megacolon) Trombocitopenie Anemie hemolitică
Herpes simplex	Toată sarcina	Microcefalie Microftalmie Infecţie localizată (peribucal, perinazal, periorbitar, organe genitale) Infecţie sistemică cu afectare hepatică, suprarenaliană etc. şi risc de deces neonatal
Varicela zoster	S 13-20	Microcefalie Întârziere de creştere intrauterină Anomalii ale sistemului nervos (atrofii cerebrale şi cerebeloase, crize comiţiale, retard mental) Anomalii oculare Hipoplazia membrelor Anomalii cutanate

Agenții ***bacterieni*** care pot afecta fătul sunt foarte numeroşi, dar *Treponema pallidum* şi *Mycoplasma tuberculosis* au potențial teratogen cert. Totuşi, toate infecțiile bacteriene pot produce anomalii congenitale, fie hipertermie, fie prin infecția lichidului amniotic.

Infecția maternă cu *treponema pallidum*, mai ales formele secundare şi terțiare de boală, au un risc teratogen crescut. Pasajul transplacentar al agentului infecțios, între a 4-a şi a 9-a lună de sarcină, poate produce avorturi spontane, naştere prematură cu produşi de concepție morți sau un set de anomalii congenitale specifice. Un aspect important al infecției prenatale cu *treponema pallidum* este acela că doar 10% din cazuri sunt manifeste neonatal.

Manifestările neonatale ale afecțiunii cuprind: prematuritatea, hepatosplenomegalia, anomalii scheletice, pneumonie şi pemfigusul sifilitic (leziuni cutanate de tip bulos).

Manifestările clinice care apar fie în primii doi ani de viață - sifilis congenital precoce – se caracterizează prin: manifestări nervoase (meningită, paralizia nervilor cranieni, leziuni vasculare intracerebrale) oculare (atrofie optică, glaucom) renale (nefroza sifilitică) hematologice (anemie, trombocitopenie, reacție leucemoidă) cutanate (vezicule, erupții buloase, peteşii) osteite, hepatite (hepatosplenomegalie, icter) şi malabsorbție.

Manifestările tardive ale sifilisului congenital apar dupa 2 ani şi sunt reprezentate de: triada Hutchinson – anomalii dentare, surditate şi keratită interstițială - anomalii oculare (dureri, fotofobie, scăderea acuității vizuale), hipoplazie maxilară, deformații nazale, manifestări neurologice (retard mintal, hidrocefalie, convulsii, paralizii ale nervilor cranieni, atrofie optică).

Parazitozele pot constitui şi ele cauză de anomalii congenitale, dar cel mai frecvent sunt citate infecțiile cu *toxoplasma gondii* şi cele cu *plasmodium falciparum*.

Toxoplasmoza este cea mai frecventă parazitoză teratogenă. Primoinfecția acută la mamă, în timpul sarcinii, determină, în absența tratamentului, un risc de avort spontan şi anomalii congenitale de aproximativ 25%. În cazul unei infecții acute cu *Toxoplasma gondii*, trebuie precizat faptul că şi terapia antiparazitară cu pyrimethamină are şi ea potențial teratogen, ceea ce complică conduita practică [137].

Prezența unei infecții cronice este şi ea asociată cu risc teratogen, dar acest risc este mult mai mic.

Toxoplasmoza congenitală se caracterizează prin: anomalii ale sistemului nervos central (microcefalie, hidrocefalie, calcificări intracraniene, retard mintal, convulsii) surditate, afectare oculară (carioreinită, microftalmie,

[137]. Probabil cea mai bună opțiune este întreruperea sarcinii

glaucom, cataractă), hepatită (hepatomegalie, icter), trombocitopenie, anemie, pneumonii, diaree, erupţii cutanate, limfodenopatie.

XIII.2.2.2.2. Factorii teratogeni fizici

Factorii fizici teratogeni sunt ***radiaţiile***, ***hipertermia*** şi ***agenţii mecanici***.

Radiaţiile ionizante (X, α, β sau γ) au efect teratogen **cert**, dar care depinde de *doză* şi de *perioada de morfogeneză* în care s-a produs. Expunerea la radiaţii a unei gravide poate surveni accidental (explozii nucleare) poate fi ocupaţională sau poate apare după efectuarea unei proceduri medicale (de obicei o radiografie).

Expunerea la **doze mai mici de 5 razi** nu au efecte teratogene. O doză de radiaţie de **10-100 de razi**, primită de mamă în săptămânile 8-15 de sarcină, poate cauza retard mental. Expunerile la doze **mai mari de 100 de razi** se asociază cu anomalii congenitale: microcefalie, microftalmie, atrofie optică, cataractă. Expunerile înainte de săptămâna a 4-a induc avort spontan.

Hipertermia maternă, mai ales în afecţiunile cu febră prelungită peste **38,9^{0}C**, între săptămânile **4-16 de gestaţie**, poate avea efect teratogen şi, de asemenea, poate induce avort spontan. Anomaliile congenitale ce au fost asociate cu hipertermia prelungită sunt: anencefalie, holoprozencefalie, microcefalie, despicătură labială şi/sau palatină, artrigripoză.

O mare varietate de ***factori mecanici*** pot împiedica dezvoltarea fătului în uter. Dintre aceştia fac parte: *malformaţiile uterine, fibromul uterin, oligohidroamnionul, bridele amniotice*. Aceşti factori produc, în special, **deformaţii** cum ar fi: piciorul strâmb congenital, plagiocefalie etc. Apariţia acestor anomalii depind de gradul de compresie intrauterină şi de o anumită predispoziţie a fătului (de exemplu prin afectare neurologică).

Bridele amniotice, prin constrângeri fetale precoce, cauzează disrupţii: exencefalie, anoftalmie, amputaţie de membre, sindactilie. Compresiune mecanică generată de un oligohidroamnios poate cauza secvenţa Potter[138].

Rareori, biopsia de vilozităţi corionice poate cauza mecanic anomalii congenitale digitale, linguale sau mandibulare.

XIII.2.2.2.3. Factorii teratogeni chimici

Agenţii chimici teratogeni includ trei categorii de substanţe: factori poluanţi din mediul ambiant, droguri neprescrise şi medicamente prescrise. La momentul actual implicarea factorilor chimici în teratogeneză este din ce în ce mai mare ca urmare a creşterii poluării ambientale, a creşterii consumului de droguri şi a creşterii consumului de medicamente.

---

[138] Secvenţa Potter – asociere specifică de anomalii congenitale (faciale, ale membrelor) secundare compresiei mecanice induse de un oligohidramnios, generat de absenţa producerii de urină fetală prin agenezie renală bilaterală.

Agenții chimici poluanți

Creşterea nivelului de poluare a mediului determină o perturbare majoră a procesului de creştere şi dezvoltare fetală.

Principalii teratogeni din mediul ambiant sunt: pesticidele de tip organo-mercurice.

Sursele principale de contaminare sunt peştele contaminat cu compuşi mercurici (prin poluare industrială) şi semințele de cereale tratate cu fungicide mercurice metilate. Anomaliile congenitale produse implică: sistemul nervos central (microcefalie, encefalopatie cronică), anomalii dentare, despicătură palatină, *spina bifida*, anomalii ale membrelor, hipospadias şi malformații ale urechii externe.

Alți agenți implicați sunt: bifenilii policloruraţi sau polibromuraţi (produc întârzieri de creştere intrauterină, pigmentare maro a tegumentelor, anomalii ale dinților, exoftalmie), solvenții organici – percloretilen, tricloretilen, glicol eter (produc secvența de regresie-caudală şi anomalii ale sistemului nervos central) – ierbicide, pesticide, metale grele etc.

Gravidele cu risc crescut de a avea copii cu anomalii congenitale sunt cele care lucrează în industria electronică, de mobilă, in vopsitorii, în spălătorii chimice, în cosmetologie, în laboratoare.

Agenții chimici medicamentoşi

Efectul teratogen al **medicamentelor** depinde de perioada embrionară în care a acționat. Substanțele chimice cu acțiune terapeutică ce pot avea efecte teratogene pot fi de origine naturală (în special plante utilizate pentru prepararea de ceaiuri) sau de origine sintetică (medicamente).

Plantele, utilizate pentru prepararea diverselor tipuri de ceaiuri, nu au un efect cert teratogen, dar folosirea acestora în cursul sarcinii trebuie limitată la maximum. În tabelul XIII.8. sunt prezentate efectele negative ale unora din plantele folosite în terapeutică.

Conform FDA (*Food and Drug Administration*), din punct de vedere teratogen, medicamentele pot fi grupate în cinci categorii: A (fără efect teartogen) B (efect teratogen probabil) C (efect teratogen probabil, certificat de studii animale) D (efect teratogen posibil) şi X (efect teratogen cert). Cele mai multe din medicamente folosite sunt, însă, incluse în categoriile D sau X.

Medicamentele cu efect cert teratogen sunt: acidul valproic, alcoolul etilic, aminopterina, androgeni, carbamazepina, diethilstilbestrol, fluconazol, hidantoina, inhibitori enzimei de conversie, litiu, metotrexat, penicilamina, fenitoina, retinoizi, streptomicina, tetraciclina, talidomida, warfarina

Efectele teratogene ale medicamentelor utilizate în practica medicală sunt prezentate în tabelul XIII.9.

Tabelul XIII.8. Efectele negative ale unor plante utilizate în sarcină

Denumirea ştiinţifică	Denumirea populară	Efecte negative
Achillea millefolium L.	Coada şoricelului	Substanţe amare, acţiune emenagogă[139]
Acorus calamus L.	Obligeană	Substanţe amare, emenagoge, stimulează contracţiile uterine
Artemisia sp.	Pelin	Stimulează contracţiile uterine, emenagog abortiv
Berberis vulgaris L.	Dracilă	Conţine substanţe amare şi alcaloizi toxici
Capsicum sp.	Ardei iute	Ulei esenţial, stimulează contracţiile uterine
Chelidonium majus L.	Rostopască	Alcaloizi, substanţe amare, emenagog
Dryopteris filix-mas L.	Ferigă	Substanţe amare, stimulează contracţiile uterine
Ephedra sp.	Cârcel	Alcaloizi, substanţe amare, stimulează contracţiile uterine
Foeniculum vulgare	Anason, fenicul	Ulei esenţial, stimulează contracţiile uterine
Glycyrrhiza glabra L.	Lemn dulce	Stimulează contracţiile uterine, emenagog
Hydrastis canadensis L.	Hydrastis	Substanţe amare, alcaloizi, stimulează contracţiile uterine
Juniperus communis L.	Ienupăr	Conţine ulei esenţial şi substanţe amare cu acţiune emenagogă
Lavandula officinalis	Levănţica	Conţine ulei esenţial şi substanţe amare cu acţiune emenagogă
Linum usitatissimum L.	In	Stimulează contracţiile uterine
Mentha pulegium L.	Busuiocul cerbilor	Conţine ulei esenţial, stimulează contracţiile uterine, emenagog
Passiflora incarnata L.	Floarea pasiunii	Ulei esenţial, stimulează contracţiile uterine
Phytolacca americana	Cârmâz	Stimulează contracţiile uterine, emenagog
Podophyllum peltatum L.	-	Podofilotoxina este purgativă, stimulează contracţiile uterine, abortiv
Rhamnus sp.	cruşinul	Conţine derivaţi antracenici cu acţiune emenagogă, abortivi
Rheum sp.	Revent, rubarbă	Derivaţi antracenici şi substanţe amare cu acţiune emenagogă şi de stimulare a contracţiilor uterine
Salvia officinalis L.	Salvie	Conţine ulei esenţial şi substanţe amare; stimulează contracţiile uterine
Tanacetum vulgare L.	Vetrice	Conţine ulei esenţial şi substanţe amare; stimulează contracţiile uterine, abortiv
Thymus vulgaris L.	Cimbru	Conţine ulei esenţial cu efect stimulant al contracţiilor uterine
Viscum album L.	Vâsc	Stimulează contracţiile uterine, abortiv (substanţe antimitotice)

[139] Acţiune emenagogă – acţiune ce induce apariţia menstruaţiei

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Tabelul XIII.9. Efectele teratogene ale unor medicamente

Medicament/categorie teratogenă	Utilizare	Efecte asupra fătului
Acid valproic (D)	Anticonvulsivant	Dismorfie cranio-facială, retard al dezvoltării
Acidul retinoic și derivații săi (X)	Antiacneic, antipsoriatic	Dismorfie cranio-facială, microtie, pareză de nerv facial, malformații ale creierului, anomalii ale timusului
Alcool (X)	Drog	retard al creșterii și dezvoltării prenatale, microcefalie, fante palpebrale scurte, dismorfie cranio-facială
Amfetamina (X)	Stimulent al SNC	Defecte cardiace, exencefalie, atrezie biliară
Carbamazepina (D)	Anticonvulsivant	dismorfie facială, unghii displazice, anomalii congenitale de cord și despicătură labială, retard al dezvoltării intrauterine și microcefalie
Clomifenul	Stimulent al ovulației	fenotip *Down-like*, defect de tub neural
Diazepam (X)	Anxiolitic, hipnotic	Despicătură labio-maxilo-palatină
Dietilamina acidului lisergic (LSD) (X)	Drog	Defecte renale, ale membrelor, ale coloanei vertebrale și ale sistemului nervos
Difenilhidantoina (X)	Anticonvulsivant	Despicătură labio-maxilo-palatină, microcefalie, dismorfie cranio-facială, hipoplazia unghiilor
Inhibitori ai enzimei de conversie (X)	Antihipertensiv	Hipoplazia craniului, disgenezia tubilor renali
Litiu (X)	Antidepresiv	Anomalii congenitale cardiace, hipotonie, dificultate în supt
Marijuana	Drog	Defecte ale membrelor
Metimazolul (D)	Agent psihotrop	Aplasia cutis, atrezie choanală, absența mameloanelor
Metotrexat, aminopterina (X)	Antagoniști ai acidului folic (citostatice)	malformații craniofaciale, defecte de tub neural, dismorfie facială, micrognație, despicătură palatină, exoftalmie, creste supraorbitare șterse, urechi malformate, hipostatură
Salicilații (D)	Anti-inflamatori	Defecte cardiace, ale membrelor, despicătură labio-maxilo-palatină
Săruri organice ale mercurului (X)	Fungicid	Microcefalie, retard mental, anomalii neurologice (ataxie, pareze ale nervilor cranieni)
Sulfonilureea	Sulfamidă antidiabetică	Defecte cardiace, ale membrelor, hernie diafragmatică
Talidomida (X)	Lepră	Defecte ale membrelor (focomelie, amelie, aplazie osoasă, polidactilie preaxială)
Trimetadiona, parametadiona	Anticonvulsivante	Deficit de dezvoltare pre și postnatală, dismorfie cranială caracteristică cu sprâncene în V, sinofris, despicătură palatină, rădăcina nasului lată, urechi rotate anterior
Warfarina (X)	Antitrombotic, anticoagulant,	Anomalii ale sistemului nervos, atrofie optică, hipoplazie nazală, nas mic cu rădăcina foarte deprimată, anomalii scheletice

În continuare sunt prezentate câteva dintre sindroamele teratogene induse de medicamente utilizate în practica medicală umană.

Hidantoina (fenitoina) are potenţial teratogen cert, dar efectul agentului terapeut este condiţionat de particularităţi fetale, aspect atestat de apariţia de anomalii congenitale la 5-10% din feţii expuşi.

Tabloul clinic al sindromului hidantoin-fetal este caracterizat prin: retard al creşterii pre şi postnatale (45%) anomalii digitale (35%) microcefalie (30%) retard mintal (25%) nas mic cu rădacină lată (20%) epicantus (15%) strabism (15%) anomalii congenitale de cord (10%) despicătură labio-palatină (10%).

Talidomida[140] este un medicament teratogen, cu efecte certe chiar şi după o singură doză. Perioada de maximă susceptibilitate a fătului la drog este cuprinsă între 20 şi 35 de zile după concepţie şi anomaliile mai frecvent întâlnite sunt: focomelia, alte malformaţii ale membrelor, anomalii ale urechii externe, atrezie esofagiană sau duodenală, tetralogie Fallot. Talidomida este complet contraindicată în sarcină, dar ingestii întâmplătoare se pot produce deoarece medicamentul este utilizat în tratamentul leprei sau ca terapie de a doua intenţie în lupusul eritematos diseminat şi mielomul multiplu.

Acidul retinoic este implicat în morfogeneza cranio-facială, a creierului, a inimii, a membrelor şi a scheletului axial. Expunerea în exces la vitamină A, izotretinoin (13-cis-acid retinoic; metabolit al vitaminei A folosit în tratamentul acneei severe) sau etretinat (folosit în tratamentul psoriazisului) în primele săptămâni de sarcină are efecte cert teratogene.

Tabloul clinic al embriopatiei determinată de acidul retinoic include: malformaţii ale creierului (70% din cazuri) cu hidrocefalie, microcefalie, malformaţii cerebeloase, anomalii ale nervilor cranieni, retard mental; dismorfie cranio-facială cu îngustarea diametrului bifrontal, anotie sau microtie, pareză de nerv facial, despicătură palatină, micrognaţie; malformaţii de cord şi ale arterelor mari (tetralogia Fallot, defecte septale atriale sau ventriculare) şi anomalii ale timusului (ţesut timic ectopic)

Agenţii chimici de tipul drogurilor sau medicamentelor neprescrise

Pe parcursul sarcinii, gravida poate consuma o serie de droguri (alcool, tutun, cafea, cocaină etc.) precum şi o serie de medicamente care nu sunt prescrise sub forma unor reţete (medicaţie antipiretică, analgetică, antiinflamatoare, antiacidă etc.). Toţi aceşti compuşi chimici pot interfera cu

[140] Talidomida a constituit subiectul unei epidemii de anomalii congenitale (~10.000 de nounăscuţi cu focomelie) în Statele Unite ale Americii, în perioada 1956-1961, când medicamentul a fost utilizat pentru combaterea efectelor disgravidiei precoce

embriogeneza, determinând apariția de anomalii congenitale la făt. Efectele teratogene ale principalelor substanțe de acest tip sunt detaliate în continuare.

Alcoolul etilic este cert teratogen. Efectul asupra embrionului este legat de doză, iar frecvența ***sindromului alcool fetal*** este estimată la 2‰ de nou-născuți. Embriopatia alcoolică este corelată cu polimorfismul genetic a două enzime: *alcool-dehidrogenaza* (converteşte etanolul în acetaldehidă) şi *acetaldehid-dehidrogenaza* (converteşte acetaldehida în acetat). Expunerea prenatală la etanol favorizează o apoptoză exagerată.

Sindromul alcool fetal, apare la nou-născuții mamelor cu etilism cronic şi se manifestă clinic prin: întârzieri în creşterea pre şi postnatală, disfuncții ale sistemului nervos central (retard mental mediu, hiperactivitate, deficit de atenție), dismorfie cranio-facială (microcefalie, epicantus, fante palpebrale scurte, ptoză palpebrală, strabism, nas scurt cu narine antevertate, hipoplazia etajului mijlociu al feței, micrognație, vermillionul buzei superioare subțire, erupție dentară întârziată) şi prezența în 15% din cazuri a unor anomalii congenitale majore de tipul despicăturilor palatine sau a anomaliilor congenitale de cord (defecte septale atriale sau ventriculare).

Fumatul cronic nu are efecte teratogene certe, dar factorii nocivi din fumul de țigară sunt asociați cu o rată crescută de pierdere de sarcină, precum şi cu un deficit de creştere staturo-ponderală pe parcursul sarcinii.

Consumul cronic de alte **droguri** (cocaină, marijuana, heroină, opiacee etc.) au efecte negative asupra fătului, dar de regulă acestea sunt greu de cuantificat, în condițiile în care femeile care consumă astfel de droguri, sunt şi fumătoare şi consumă, concomitent şi etanol. Modificările combinate a acestor factori asupra morfogenezei se manifestă prin: întârziere în dezvoltare intrauterină, anomalii ale sistemului nervos central, cordului şi tractului urinar, dismorfie facială caracteristică (îngustare bitemporală, creste supraorbitare orizontale, fante palpebrale scurte, nas scur, narine antevertate).

XIII.2.2.2.4. Factorii teratogeni materni

Unele boli materne, precum diabetul zaharat sau fenilcetonuria maternă au efecte negative asupra dezvoltării fetale, fie *per se*, fie datorită tratamentului pe care gravida trebuie să-l ia pentru controlul afecțiunii respective.

Diabetul zaharat insulino-dependent matern este asociat cu un risc crescut de deces prenatal, respectiv de apariție a anomaliilor congenitale. Anomaliile congenitale mai frecvent întâlnite în fetopatia diabetică sunt: displazia caudală, malformații cardiace (transpoziția marilor vase), malformații renale, despicătură labio-palatină, defecte de tub neural, holoprozencefalie.

Fenilcetonuria maternă, mai ales cazurile în care gravidele afectate nu respectă strict regimul alimentar şi expun fătul la niveluri crescute de fenilalanină, acid fenil piruvic şi alți metaboliți toxici, are efecte grave,

manifestate în special prin retard mental şi microcefalie, dar şi prin anomalii congenitale cardiace, vertebrale sau oculare[141].

XIII.2.3. PROFILAXIA ANOMALIILOR CONGENITALE

Prevenirea apariţiei anomaliilor congenitale trebuie să reprezinte o prioritate medicală pe parcursul oricărei sarcini, indiferent de vârsta gravidei. Măsurile profilactice pot fi primare sau secundare.

Profilaxia primară a anomaliilor congenitale este posibilă în cazurile la care se cunoaşte cauza genetică sau ecologică şi vizează evitarea factorului cauzal la viitoarele sarcini ale femeii.

Combaterea factorilor teratogeni necesită mai multe măsuri precum: educaţia sanitară a cuplurilor parentale, alegerea unei perioade concepţionale optime prin planning familial corect, evitarea concepţiei după vârsta de 35 de ani la femei (risc crescut de aneuploidii, în special trisomie 21) şi 45 de ani la bărbaţi (risc crescut pentru apariţia de mutaţii germinale dominante autosomale) corecţia bolilor cronice materne, precum diabetul zaharat insulino-dependent, fenilcetonuria, epilepsia. De exemplu, în diabetul zaharat insulino-dependent trebuie suplimentată doza de insulină sau schimbată schema de tratament, pentru a reduce la minim efectele negative ale alternanţei de perioade de hiper- şi hipoglicemie. De asemenea, în fenilcetonurie, femeia afectată trebuie să revină la restricţia alimentară completă de fenilalanină, atât pe parcursul sarcinii, cât şi trei luni preconcepţional.

Alte direcţii de profilaxie primară sunt: suplimentarea dietei cu acid folic (400-800 μg/zi) în primele două luni de sarcină şi o lună preconcepţional, pentru a reduce riscul de defecte de tub neural[142], vaccinarea antirubeolică a tinerelor fete, evitarea agenţilor infecţioşi teratogeni, renunţarea la o serie de obiceiuri dăunătoare (fumat, consumul de băuturi alcoolice, chiar şi slabe). De maximă importanţă pe parcursul sarcinii, este evitarea la maximum a administrării de medicamente şi, în special, a celor cu efecte cert teratogene (vezi tabelul XIII.9.).

Profilaxia secundară constă în evitarea naşterii unui făt anormal. Acest lucru este posibil prin măsuri de screening şi diagnostic prenatal. Tot o măsură de profilaxie secundară poate fi considerată şi depistarea precoce a anomaliilor congenitale, deoarece astfel pot fi limitate sau chiar corectate efectele negative ale anomaliilor congenitale.

XIII.3. ANOMALIILE SEXUALIZĂRII

Fiecare etapă a dezvoltării sexuale normale poate fi perturbată, conducând la tulburări ale procesului normal de sexualizare.

---

[141] Vezi capitolul **Boli monogenice**

[142] Vezi capitolul **Boli multifactoriale**

Factorii etiologici sunt multipli și includ factori genetici (anomalii cromosomice, boli monogenice și boli multifactoriale) dar și factori de mediu (medicamente administrate în cursul sarcinii care au efect virilizant asupra fătului). Anomaliile sexualizării pot fi împărțite în trei categorii: **anomalii ale gonosomilor, anomalii ale determinismului sexual** și **anomalii ale diferențierii sexuale.**

XIII.3.1. ANOMALIILE GONOSOMALE

Determinismul și diferențierea sexuală normală este condiționată de existența a doi gonosomi normali: XX la femeie și XY la bărbat. Orice modificare numerică sau structurală a gonosomilor determină anomalii de formare a gonadelor, numite **disgenezii gonadice**. Disgeneziile gonadice sunt caracterizate prin absența sau dezvoltarea deficitară a gonadelor, soldată cu sterilitate (infertilitate) și sexualizare secundară deficitară.

Disgeneziile gonadice pot fi împărțite în trei categorii: cu fenotip feminin, cu fenotip masculine sau cu fenotip mixt.

Disgeneziile gonadice cu fenotip feminin sunt reprezentate de sindromul Turner, trisomia și polisomiile X și disgenezia gonadică cu cariotip 46,XY.

Disgeneziile feminine se caracterizează prin prezența unor ovare nefuncționale, ceea ce determină un morfotip feminin, dar cu tulburări de sexualizare secundară și, de regulă, cu sterilitate primară și definitivă.

Disgeneziile gonadice cu fenotip masculin includ: sindromul Klinefelter, polisomiile XY, anomaliile structurale ale cromosomului Y și disgenezia gonadică cu cariotip 46,XX.

Disgeneziile masculine se caracterizează prin prezența unor testicule nefuncționale, ceea ce determină un morfotip masculin, dar cu tulburări de sexualizare secundară și, de regulă, cu azoospermie și sterilitate primară și definitivă.

Disgeneziile gonadice cu fenotip mixt sunt caracterizate printr-un fenotip intermediar între cel feminin normal și cel masculin normal. Astfel, persoanele cu un astfel de fenotip prezintă stări intersexuale. Entitățile clinice ce pot fi încadrate în această categorie sunt: hermafroditismul adevărat și disgenezia gonadică mixtă.

În tabelul XIII.10. sunt prezentate anomaliile gonosomale ce determină diverse forme de disgenezie gonadică.

În continuare sunt prezentate câteva din cele mai frecvente disgenezii gonadice, exceptând sindroamele Turner sau Klinefelter, prezentate detaliat în capitolul **Boli cromosomice.**

Tabelul XIII.10. Anomalii gonosomale în disgenezii

Fenotip	Anomalie
Disgenezie gonadică feminină	45,X 45,X /46,XX 45,X/46,XX/47,XXX 46,X, delXp 46,X, delXq 46,X, i(Xp) 46,X, i(Xq) 46,X, r(X) 47,XXX 46,XX/47,XXX 48,XXXX 46,XX/48,XXXX 46,XX/47,XXX/48,XXXX 46,XY
Disgenezie gonadică masculină	47,XXY 46,XY/47,XXY 46,XY/47,XXY/48,XXXY 48,XXXY 49,XXXXY 49,XXXYY 46,XY/47,XYY 46,X,i(Yq) 46,X,del(Yq) 46,XX
Disgenezie gonadică mixtă	46,XX/46,XY 45,X/46,XY 45,X/46,X,i(Yq)

XIII.3.1.1. SINDROMUL BĂRBAŢILOR 46,XX

Boala afectează 1/10000 – 1/20000 de bărbaţi. Ea reprezintă o anomalie a determinismului sexual, fiind determinată în 80% dintre cazuri de translocaţia genei SRY de pe cromosomul Y pe cromosomul X, în cursul meiozei paterne. Translocaţia este favorizată de localizarea genei SRY în vecinătatea regiunii pseudoautosomale a cromosomului Y (Yp11.3).

Fenotipul este similar celui din sindromul Klinefelter, dar talia este de obicei sub media corespunzătoare sexului masculin. Testiculii sunt normali în timpul copilăriei, dar postpubertar se atrofiază probabil prin efectul negativ al celui de-al doilea cromosom X. Atrofia testiculară determină azoospermie şi sterilitate primară.

Cariotipul este 46,XX, dar explorările imagistice pelvine indică absenţa ovarelor şi a căilor genitale interne feminine. Analizele hormonale postpubertare arată hipotestosteronemie în asociere cu niveluri crescute ale gonadotrofinelor hipofizare (FSH şi LH). Diagnosticul de certitudine este stabilit prin tehnica FISH, folosind sonde specifice regiunii SRY sau prin analiză genică.

XIII.3.1.2. DISGENEZIA GONADICĂ MIXTĂ 45,X/46,XY

Disgneziile gonadice mixte sunt definite anatomopatologic prin asocierea unui testicul disgenetic într-un hemicorp şi a unei bandelete fibroase în celălalt hemicorp. Citogenetic, disgeneziile gonadice mixte sunt caracterizate printr-un mozaic cromosomic 45,X/46,XY, fiind posibilă prezența în cea de-a doua linie celulară a unui cromosom Y normal sau cu anomalie structurală.

Clinic, disgeneziile gonadice mixte se caracterizează printr-un spectru ce variază de la fenotip turnerian până la morfotip masculin cvasinormal, dependent de proporția de celule din mozaic şi de existența potențială a unui mozaic somatic. În majoritatea cazurilor există o stare intersexuală, mai apropiată de morfotipul feminin, caracterizată prin hipertrofie clitoridiană, fuziune parțială labioscrotală şi organe genitale interne de tip feminin (trompe uterine, uter, vagin).

Existența gonadelor disgenetice, mai ales când sunt localizate intraabdominal, se asociază cu un risc crescut de apariție a gonadoblastomului, astfel încât conduita practică implică gonadectomia bilaterală.

XIII.3.1.3. HERMAFRODITISMUL ADEVĂRAT

Hermafroditismul adevărat se caracterizează prin prezența la acelaşi individ a ambelor tipuri de gonade. Din punct de vedere anatomopatologic există mai multe variante: forme laterale (testicul pe o parte şi ovar pe cealaltă parte) - 40% din cazuri; forme unilaterale (un ovotestis pe o parte şi testicul sau ovar controlateral) - 40% din cazuri şi forme bilaterale (ovotestis bilateral) - 20% din cazuri. Organele genitale externe sunt ambigue: peno-clitoris cu hipospadias şi labioscrot.

Din punct de vedere citogenetic, majoritatea cazurilor au o formulă cromosomică feminină - 46,XX. În 10% din cazuri, cariotipul este masculin - 46,XY. În aproximativ 1/4 din cazuri, sunt identificate himere de tipul 46,XX/46,XY sau mozaicuri gonosomale complexe în care există cel puțin o linie celulară cu cromosom Y.

Etiologia este necunoscută, dar se presupune că în formele 46,XX, intervin mutații activatoare ale unor gene implicate în masculinizare, în timp ce în formele 46,XY intervin mutații parțial inactivatoare ale aceloraşi gene.

XIII.3.2. ANOMALIILE DETERMINISMULUI SEXUAL

Anomaliile determinismului sexual se caracterizează prin existența unor gonade disgenetice la un individ cu cariotip normal. Astfel, există o discordanță între sexul genetic pe de o parte şi sexul gonadic şi cel genital pe de altă parte.

XIII.3.2.1. DISGENEZIA GONADICĂ PURĂ CU CARIOTIP 46,XX

Forma tipică de disgenezia gonadică pură cu cariotip 46,XX asociază: talie normală, infantilism sexual, organe genitale externe şi interne feminine, amenoree primară, secreţie crescută a hormonilor gonadotropi FSH şi LH şi prezenţa unor bandelete fibroase în locul gonadelor, bilateral, la paciente cu cariotip feminin normal, 46,XX.

Majoritatea cazurilor apar sporadic, însă există şi cazuri cu agregare familială transmise recesiv autosomal. În formele familiale manifestările clinice şi histologice sunt variabile, existând o disfuncţie ovariană, cu telarhă redusă sau absentă şi amenoree secundară. Aceste date sugerează existenţa unei gene mutante autosomale care împiedică diferenţierea normală a gonadei la sexul feminin. În schimb, formele sporadice sunt caracterizate prin sterilitate primară.

Tratamentul constă în substituţie hormonală cu preparate estroprogestative, administrate ciclic, pentru a induce dezvoltarea caracterelor sexuale secundare şi dezvoltarea uterului.

XIII.3.2.2. DISGENEZIA GONADICĂ PURĂ CU CARIOTIP 46,XY

Disgenezia gonadică pură cu cariotip 46,XY este diagnosticată de obicei postpubertar. Elementele de diagnostic clinic sunt: morfotip feminin, dar cu talie înaltă, extremităţi lungi, umeri largi şi absenţa sânilor, ceea ce imprimă un aspect eunucoidal. Pilozitatea pubiană este redusă, iar cea axilară lipseşte. Organele genitale sunt feminine, dar hipoplazice: labiile mici nedezvoltate, cu absenţa sau reducerea gradului de pigmentare, vaginul este normal ca lungime, dar îngust, iar uterul este hipoplazic.

Rareori, diagnosticul poate fi stabilit prepubertar, în condiţiile în care există o ambiguitate a organelor genitale externe (hipertrofie clitoridiană şi fuziune parţială a labiilor mari), consecinţă probabilă a secreţiei de androgeni fetali de către gonadele disgenetice.

Explorările paraclinice relevă valori foarte scăzute ale hormonilor estrogeni şi foarte crescute pentru hormonii gonadotropi, iar frotiul vaginal arată absenţa efectului estrogenic şi a modificărilor ciclice.

Explorările citogenetice: testul Barr este negativ, iar cariotipul relevă o formulă cromosomică 46,XY.

Laparotomia exploratorie şi examenul histo-patologic evidenţiază prezenţa în locul gonadelor a două bandelete fibroase, nediferenţiate, din care lipsesc celulele germinale feminine, dar există resturi mezonefrice sau celule Leydig.

Evoluţia pacientelor cu disgenezie gonadică pură 46,XY este frecvent marcată de apariţia unor tumori gonadice, fiind indicată gonadectomia profilactică şi substituţie hormonală instituită la pubertate.

XIII.3.2.3. SINDROMUL TESTICULELOR ABSENTE

Pacienții cu acest sindrom au o simptomatologie indusă de regresia embrionară completă a țesutului testicular, astfel încât gonadele masculine sunt absente. Pacienții au cariotip 46,XY, dar testiculii lipsesc complet.

Fenotipul se caracterizează printr-un spectru de manifestări ce variază între două extreme. La un capăt al spectrului se găsesc indivizii cu morfotip feminin, gonade absente şi organe genitale externe anormale, de obicei feminine. Elementele anatomice derivate din canalele Müller (trompe uterine, uter, 1/3 superioară a vaginului) sunt rudimentare, în timp ce elementele anatomice derivate din canalele Wolff (canal deferent, epididim, prostată, vezicule seminale) sunt absente. La capătul opus al spectrului fenotipic se găsesc pacienții cu morfotip masculin, cu anorhie bilaterală, micropenis, absența structurilor mulleriene şi prezența celor wolffiene.

Cauza este necunoscută, fiind posibile mutații ale genei SRY sau factori teratogeni (infecții, traumatisme, afecțiuni vasculare).

XIII.3.3. ANOMALIILE DIFERENȚIERII SEXUALE

Anomaliile diferențierii sexuale determină un grup de afecțiuni caracterizate anatomo-patologic printr-o concordanță între sexul genetic şi cel gonadic pe de o parte şi o discordanță între acestea şi sexul genital pe de altă parte. Aceste boli, caracterizate clinic prin stări intersexuale, reprezintă pseudohermafroditismele. În raport cu sexul genetic, pseudohermafroditismele se împart în: feminine şi masculine.

Pseudohermafroditismele feminine, reprezintă 85% din totalul anomaliilor de diferențiere sexuală şi se caracterizează prin sex genetic feminin (46,XX) prezența de ovare şi masculinizare a organelor genitale externe. Pseudohermafroditismele masculine, reprezintă 15% din totalul anomaliilor de diferențiere sexuală şi se caracterizează prin sex genetic masculin (46,XY) prezența de testicule şi un grad redus de masculinizare a organelor genitale externe.

XIII.3.3.1. PSEUDOHERMAFRODITISMELE FEMININE

Pseudohermafroditismele feminine apar la organisme cu sex genetic feminin, care au gonade feminine normale bilateral (ovare), dar a căror căi genitale şi organe genitale externe sunt virilizate, datorită unui exces de androgeni prezent în cursul vieții fetale.

Sursele de androgeni pot fi exogene sau endogene. Excesul exogen de androgeni este din ce în ce mai puțin incriminat, deoarece majoritatea produselor progesteronice cu efecte secundare androgenice (precum 17-alfa-

19-nortestosteronul) au fost scoase din producţie sau administrarea lor pe parcursul gestaţiei este interzisă.

Cauzele endogene ale excesului de androgen sunt reprezentate de diverse mutaţii în genele implicate în sinteza sexosteroizilor şi de tumori materne virilizante.

XIII.3.3.1.1. Anomalii în sinteza hormonilor sexuali

Sinteza hormonilor sexuali se face plecând de la colesterol şi are loc în mai multe etape controlate enzimatic (figura XIII.4.).

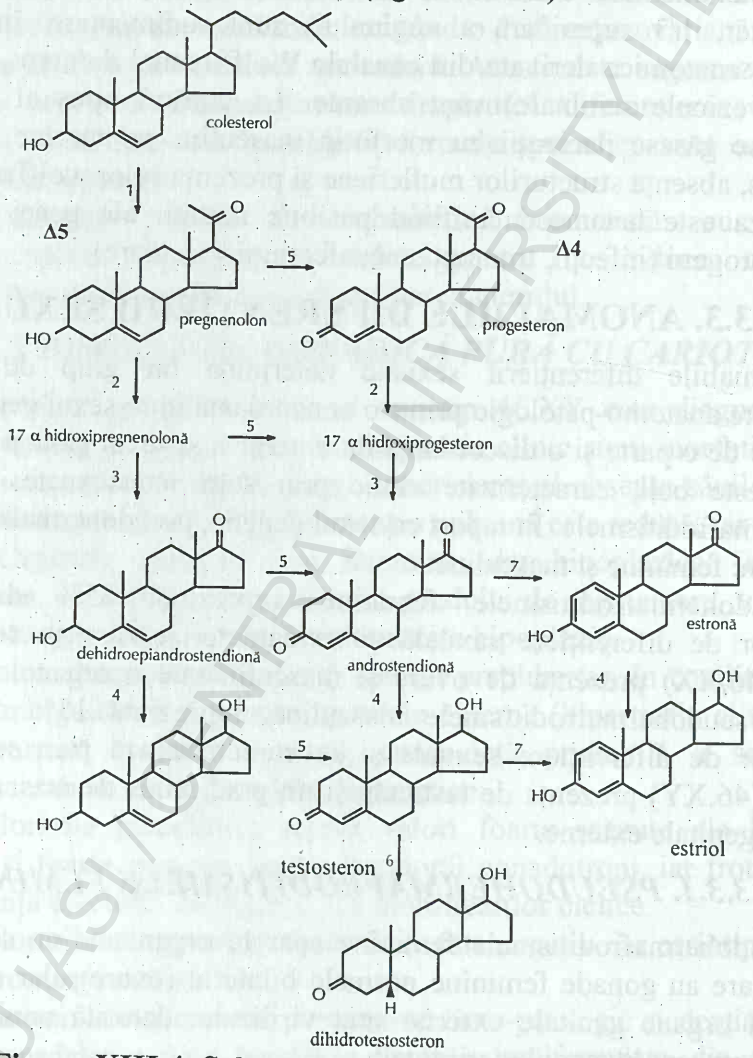


Figura XIII.4. Schema de sinteză a hormonilor sexuali

1 complexul de clivare a lanţului lateral a colesterolului; **2** 17α hidroxilază; **3** C17-C20-liază; **4** 17β-hidroxisteroiddehidrogenază; **5** 3β-hidroxisteroiddehidrogenază; **6** 5α reductază; **7** complex enzimatic de aromatizare

CU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Majoritatea acestor enzime aparțin familiei citocromului P_{450} (cyt P450). Activitatea tuturor acestor enzime poate fi afectată, ducând la scăderea sau dispariția producției de steroizi în aval și la acumularea de precursori în amonte în lanțul de formare. Defectele enzimatice situate în primele etape ale biosintezei steroizilor afectează producția de steroizi suprarenali și gonadali, iar defectele enzimatice situate sub CYP17 nu afectează decât sinteza gonadală.

Mutațiile genelor steroidogenezei au transmitere recesivă autosomală și antrenează un spectru clinic larg de disfuncții gonadale. La sexul feminin anomaliile clinice merg de la virilizare severă asociată cu ambiguitate sexuală la naștere (pseudohermafroditism feminin), și hipogonadism primar la pubertate, până la anovulație și tulburări minore ale funcției suprarenale în copilărie.

3 β - hidroxisteroid - dehidrogenaza (3 β - HSD) convertește steroizii Δ5 în Δ4, prezența sa fiind necesară pentru sinteza de steroizi suprarenali și gonadali. Enzima este codificată de 2 gene, localizate 1p11-13. La unele fete, mutațiile oricăreia dintre cele două gene determină virilizare neonatală, prin exces de dihidroepiandrostendionă care este convertit în testosteron de 3 β - HSD hepatică. La vârsta adultă gonadotrofinele sunt crescute. La pacientele fără virilizare neonatală, apare o hiperandrogenie pubertară, fiind cauză de anovulație la femeia tânără.

17α-hidroxilaza (CYP17) este enzima cheie pentru conversia în androgeni și estrogeni, convertind progesteronul în 17-hidroxiprogesteron și pregnenolonul în 17-hidroxipregnenolon. Ea este codificată de o genă situată 10q24-25. Deficitul de 17 α-hidroxilază poate exista izolat sau asociat cu un deficit de C17-20 liază. Deficitul de 17α-hidroxilază se transmite recesiv autosomal și este responsabil de hiperplazie suprarenaliană. Fetele au dezvoltare normală in utero, dar pubertatea este absentă sau întreruptă prin producție insuficientă de steroizi sexuali (hipogonadism hipergonadotrop). Fenotipul femeilor cu mutații ale genei CYP17 se caracterizează prin caractere sexuale secundare deficitare (absența dezvoltării glandelor mamare), amenoree primară, gonadotropine crescute, insuficiență ovariană. Vaginul, uterul și ovarele sunt prezente, dar hipoplazice, datorită secreției scăzute de estrogeni.

17 β - hidroxisteroid reductaza (17 - HSR) este codificată de 3 gene localizate pe cromosomul 17. Enzima convertește Δ4-androstendiona în testosteron și estrona în estradiol. Deficitul de 17 β HSR este rar, iar la sexul mutațiile devind evidente în perioada adultă, când se manifestă prin hiperandrogenie și ovare polichistice.

Glandele corticosuprarenale secretă trei tipuri de steroizi: glucocorticosteroizi, mineralocorticosteroizi și sexosteroizi. În condiții normale,

corticosuprarenalele secretă de 100 până la 1.000 de ori mai mult cortizol decât aldosteron şi cantităţi insignifiante de sexosteroizi. Cea mai mare parte a enzimelor implicate în sinteza steroizilor gonadali (P_{450}SCC, 3α-HSD, 17β-HSR) sunt necesare şi pentru sinteza steroizilor suprarenalieni, iar anomaliile acestor gene pot antrena un deficit de cortizol. Prin mecanism de feed-back pozitiv, creşterea secreţiei de ACTH la nivelul hipofizei antrenează o hiperplazie suprarenală cu acumulare de precursori. Aceştia sunt transformaţi în androgeni la nivelul suprarenalelor şi antrenează semne de hiperandrogenie şi tulburări de reproducere. Hiperplazia congenitală suprarenaliană este cea mai frecventă cauză de pseudohermafroditism feminin şi este consecinţa unor anomalii în căile de sinteză a hormonilor steroidieni la nivelul glandei suprarenale. Cea mai frecventă formă de este cauzată de deficitul de 21 hidroxilază, dar pot fi implicate şi deficitele de 11-beta-hidroxilază.

La nivel suprarenalian **21-hidroxilaza** (C21) asigură conversia progesteronului în 11-deoxicorticosteron şi a 17-OH-progesteronului în 11-deoxicortizol, iar **11-hidroxilaza** (C11) determină conversia deoxicorticosteronului în corticosteron şi a 11-deoxicortizolului în cortizol.

Deficitul de 21 - hidroxilază este forma congenitală cea mai frecventă de hiperplazie corticosuprarenaliană (90 - 95 % din cazuri). Forma clasică, completă, afectează fetele care prezintă la naştere un pseudohermafroditism feminin cu virilizare severă prin exces de expunere la androgeni in utero şi o hiponatremie severă neonatală prin blocarea sintezei aldosteronului (sindrom de pierdere de sare)[143].

Gena CYP11 B1 este localizată 8q22. **Deficitul de CYP B1** reprezintă a doua cauză de hiperplazie corticosuprarenaliană. El produce un pseudohermafroditism feminin cu grad variabil de masculinizare a organelor genitale externe la feţii feminini. De multe ori, diagnosticul nu poate fi stabilit la naştere, mai ales că pierderea de sare este absentă. În schimb, deseori boala este diagnosticată datorită hipertensiunii arteriale. Nivelurile de 11-deoxicortisol şi deoxicorticosteron sunt crescute. Cortizolul şi aldosteronul sunt scăzute, iar ACTH-ul crescut.

O altă enzimă, al cărei deficit este implicat în pseudohermafroditismul feminin este aromataza placentară (CYP19). Aceasta cauzează virilizarea embrionilor feminini datorită conversiei deficitare a androgenilor în estrogeni. În mod normal, aromataza are rolul de a converti androgenii (testosteronul şi androstendionul) în estradiol şi ulterior în estronă. Mutaţiile genei CYP19 determină la nou-născuţii de sex feminin un pseudohermafroditism feminin, caracterizat prin ambiguitate sexuală cu clitoromegalie, dar fără a exista şi hiperplazie suprarenaliană. La pubertate

[143] Vezi capitolul **Boli monogenice**

creşte secreția de FSH şi LH şi se dezvoltă chişti ovarieni, dar secreția scăzută de estrogeni determină absența telarhei şi a menarhei.

În cazul acestei mutații, mamele copiilor afectați (purtătoare heterozigote – Na) ar fi putut prezenta, pe parcursul sarcinii, niveluri crescute de androgeni, manifestate prin hirsutism.

XIII.3.3.1.2. Pseudohermafroditisme feminine prin exces matern de androgeni

Pseudohermafroditismul feminin poate apărea, de asemenea, ca urmare a unor tumori ovariene virilizante (areoblastoame sau luteoame) sau mai rar ca urmare a unor tumori virilizante suprarenaliene.

XIII.3.3.1.3. Sindromul Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser

O formă particulară de pseudohermafroditism feminin apare în condițiile existenței unor anomalii de dezvoltare a ductelor mulleriene. Afecțiunea denumită sindrom Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser reprezintă a doua cauză de amenoree după sindromul Turner.

Majoritatea pacientelor sunt identificate ca urmare a absenței menstruațiilor la vârsta pubertară. Înălțimea este normală, ca şi caracterele sexuale secundare. Uterul poate varia de la aproape normal până la forma bicornuată rudimentară cu sau fără lumen. Absența uterului se poate asocia cu anomalii renale (agenezie, ectopie, rinichi în potcoavă) sau scheletice (vertebre supranumerare, asimetrice sau fuzionate)[144].

XIII.3.3.2. PSEUDOHERMAFRODITISMELE MASCULINE

Pseudohermafroditismele masculine sunt caracterizate clinic prin deficite de virilizare la persoane cu sex genetic masculin - 46,XY. Spre deosebire de pseudohermafroditismele feminine, cele masculine pot fi determinate de mai multe cauze, aspect concordant cu mecanismul activ al diferențierii sexuale masculine, ce implică intervenția a numeroşi factori, codificați de gene diferite. Astfel, pseudohermafroditismele masculine pot apare prin defecte la nivelul hormonilor (sau receptorilor acestor hormoni) care controlează androgeneza, defecte în sinteza androgenilor, defecte în acțiunea androgenilor, defecte în acțiunea (sau recepția) hormonului antimüllerian sau ca urmare a unor erori de morfogeneză a organelor genitale externe masculine.

XIII.3.3.2.1. Defecte ale hormonilor ce controlează androgeneza

Acțiunea hormonilor sexuali, atât la femeie, cât şi la bărbat este controlată de gonadotrofinele – FSH şi LH – produse la nivelul adenohipofizei. La nivelul

---

[144] Asocierea dintre anomalii uterine, renale şi scheletice este caracteristică sindromului Klippel-Feil

testiculilor, acţiunea acestor hormoni se realizează prin legare la receptori specifici. Receptorii pentru gondatrofine fac parte din familia receptorilor cuplaţi cu proteina G (GPCR - *G protein coupled receptor)*, iar genele ce codifică receptorii pentru FSH şi LH sunt localizate 2p21.

Mutaţiile inactivatoare ale genei receptorului pentru LH, determină hipogonadisme hipergonadotrope. Boala are transmitere recesiv autosomală, iar bărbaţii afectaţi prezintă un nivel scăzut al testosteronemiei şi manifestări clinice ce variază de la pseudohermafroditism până la fenotip masculin cu pubertate întârziată. LH-ul este crescut, în timp ce FSH-ul este normal sau uşor crescut. Biopsia testiculară a evidenţiat hipoplazie sau agenezie Leydigiană, concordantă cu severitatea defectului receptorului pentru LH. Funcţia celulelor Sertoli este normală, dar bărbaţii au o spermatogeneză anormală.

Mutaţiile inactivatoare ale receptorului pentru FSH are efecte mai puţin marcate, singurele efecte la persoanele de sex masculin fiind hipoplazia testiculară, dar fără a fi perturbată major fertilitatea.

XIII.3.3.2.2. Defecte în sinteza androgenilor

Anomaliile în sinteza hormonilor androgeni sunt responsabile pentru aproximativ 1/5 din cazurile de pseudohermafroditism masculin. Sinteza hormonilor androgeni (figura XIII.4.) se face plecând de la colesterol şi implică intervenţia mai multor enzime. Mutaţiile genelor acestor enzime determină o producţie scăzută de androgeni, ce antrenează masculinizare incompletă a organelor genitale externe şi/sau a căilor genitale interne, dar fără a exista derivate mulleriene. Masculinizarea tractului urogenital este variabilă, de la aspect masculin cu hipospadias moderat până la aspect feminin, în funcţie de severitatea defectelor enzimatice şi existenţa unor căi alternative.

Mutaţiile **3β-hidroxisteroid-dehidrogenazei (3β-HSD)** determină un pseudohermafroditism masculin care variază de la virilizare incompletă cu hipospadias şi micropenis până la fenotip feminin prezent de la naştere.

Deficitul de **17α - hidroxilază** se transmite recesiv autosomal şi produce hiperplazie suprarenaliană. La băieţi, diferenţierea sexuală este incompletă cu: micropenis, hipospadias, sau fenotip feminin complet, prin insuficienţă de expunere *in utero* la testosteron. La pubertate, virilizarea este redusă sau absentă.

Deficitul de **17 β - hidroxisteroid reductaza (17 - HSR)** se manifestă la sexul masculin prin depistarea la naştere de organele genitale externe feminine, rareori fiind prezentă ambiguitatea sexuală sau micropenisul. La pubertate copiii se virilizează şi apare ginecomastia.

5 α – reductaza, codificată de 2 gene situate 5p15 şi 2p23, este activă în numeroase organe (gonade, creier, piele etc.) şi converteşte testosteronul în dihidrotestosteron. Dihidrotestosteronul asigură *in utero* masculinizarea organelor genitale externe la fetusul XY şi maturarea sexuală la pubertate.

Deficitul de 5 α - reductază antrenează anomalii fenotipice la naştere: organele genitale interne sunt masculine[145], în timp ce organele genitale externe sunt incomplet masculinizate.

Aspectul tipic include hipospadias perineoscrotal, şanț uretral ventral, o pungă de deschidere a vaginului în uretră sau sinus urogenital. Pe parcursul vieții se poate produce o oarecare virilizare, iar pacienții îşi pot schimba identitatea de gen şi rol către sexul masculin.

Unele forme mai puțin severe pot asocia hipospadias şi micropenis. Spermatogeneza este redusă. Fertilitatea depinde mai ales de anomaliile anatomice ale sistemului ductal şi ale organelor genitale externe.

XIII.3.3.2.3. Defecte în acțiunea androgenilor

Anomaliile în acțiunea androgenilor se caracterizează prin sinteza normală a testosteronului, cu regresia normală a canalelor Muller, prezența anomaliilor în dezvoltarea fenotipului masculin fiind determinată de tulburări în acțiunea androgenilor la nivelul țesuturilor țintă.

Androgenii acționează prin intermediul unui receptor specific, care face parte din familia receptorilor nucleari. Acest receptor este codificat de o genă localizată pe cromosomul X.

Mutațiile acestei gene alterează acțiunea hormonilor androgeni la nivelul organelor țintă, pertrurbând masculinizarea. La nivelul genei receptorului pentru testosteron au fost identificate mai multe tipuri de mutații, care au efecte fenotipice diferite, care variază de la un deficit de virilizare complet (specific sindromului Morris[146]) până la un deficit insignifiant, astfel încât bărbații sunt fertili şi au o virilizare aproape normală.

Sindromul de feminizare testiculară completă (sindromul Morris) este cea mai frecventă formă de pseudohermafroditism masculin (1/20.000 nou născuți). Majoritatea cazurilor au aspect feminin normal cu caractere sexuale secundare normale, exceptând reducerea/absența pilozității axilare şi pubiene. Vaginul este rudimentar, iar trompele uterine şi uterul sunt absente[147]. Testiculii pot fi localizați intraabdominal sau inghinal şi sunt disgenetici, fiind necesară exereza chirurgicală datorită riscului de malignizare.

Deficitele parțiale ale receptorului androgenic determină o **feminizare testiculară incompletă** (organe genitale ambigue cu labioscrot şi hipertrofie clitoridiană şi virilizare accentuată pubertară) şi **sindromul Reifenstein** (fenotipul şi dezvoltarea psihologică este de tip masculin, dar cu hipospadias perineoscrotal, ginecomastie frecventă, criptorhidism şi azoospermie).

---

[145] Formarea căilor genitale interne este dependentă de intervenția testosteronului

[146] Vezi capitolul **Boli monogenice**

[147] Secreția de hormon antimüllerian este normală

XIII.3.3.2.4. Defecte în acţiunea hormonului antimüllerian

Absenţa hormonului antimüllerian sau deficitul receptorului acestui hormon determină persistenţa derivatelor mülleriene (, 1/3 superioară a vaginului) la persoane de sex masculin. În absenţa hormonilor sexuali feminini, dezvoltarea trompelor uterine şi a uterului este redusă. Acestea sunt localizate frecvent la nivelul canalului inghinal, ceea ce permite detecţia întâmplătoare a afecţiunii în cursul unor operaţii ce vizează corecţia herniilor inghinale.

XIII.3.3.2.5. Erori de morfogeneză a organelor genitale externe

Defectele în dezvoltarea organelor genitale externe masculine pot constitui forme de pseudohermafroditism masculin. Acestea sunt reprezentate de hipospadias şi criptorhidism.

Hipospadiasul este o anomalie congenitală frecventă, fiind prezentă la 0,5-0,8% din băieţi. Eroarea de morfogeneză se caracterizează prin localizarea anormală a orificiului extern al uretrei pe faţa ventrală a penisului, într-o poziţie intermediară între cea normală şi perineu. În raport cu localizarea orificiului uretral, hipospadiasul paote fi: glandular, penian sau perineo-scrotal. Deseori, hipospadiasul este însoţit de încurbarea ventrală a penisului. Etiologia afecţiunii este incomplet elucidată, astfel încât doar 25% din cazuri au o cauză evidentă: genetică (boli monogenice, boli cromosomice) sau ecologică.

Criptorhidismul, caracterizat prin absenţa la naştere, uni- sau bilaterală a testiculilor în scrot, afectează 3% din nou-născuţii la termen şi 30% din nou-născuţii prematuri. În majoritatea cazurilor, coborârea testiculilor se completează în primul an de viaţă, astfel încât incidenţa bolii la 1 an este mult mai mică. Cauzele acestei maladii sunt încă necunoscute, deşi există o serie de factori posibili. În condiţiile în care anomalia se menţine la vârsta de 1 an, este necesară corecţia ei, fie prin tratament hormonal, fie pe cale chirurgicală. Această abordare este necesară, deoarece menţinerea îndelungată a testiculilor în abdomen sau în canalul inghinal se asociază cu afectarea spermatogenezei şi risc de transformare malignă.

XIII.3.4. CONDUITA PRACTICĂ ÎN ANOMALIILE DE SEXUALIZARE

Prezenţa unei stări intersexuale impune, în primul rând, un diagnostic rapid şi corect. Astfel, neonatologul trebuie să facă un examen clinic minuţios în care să evalueze locurile de deschidere ale uretrei şi vaginului, dimensiunile penisului/clitorisului, localizarea gonadelor masculine, existenţa altor anomalii congenitale. Într-o astfel de situaţie, este necesară o temporizare a eliberării

certificatului de naştere, până la identificarea sexului genetic şi stavilirea unei concordanțe între acesta şi sexul civil.

Analiza cromosomică clasică este esențială pentru stabilirea sexului genetic, fiind necesară examinarea unui număr mare de metafaze pentru evidențierea unui eventual mozaic gonosomal. În cazul găsirii de cromosomi marker, se impune efectuarea metodei FISH cu sonde specifice celor doi gonosomi, pentru identificarea unor anomalii structurale ale cromosomilor sexuali. În continuare vor fi aplicate explorări imagistice pelvine – ecografie, tomografie computerizată – pentru a evidenția tipul de gonadă şi căile genitale interne. De asemenea, sunt utile analizele hormonilor sexuali şi a celor suprarenalieni pentru identificarea defectelor biochimice de steroidogeneză.

Pe baza rezultatului analizelor genetice, imagistice şi biochimice, coroborate cu aspectul anatomic al organelor genitale şi în funcție de posibilitățile tehnice de corecție chirurgicală, va fi declarat sexul civil, ceea ce va permite adoptarea unui tipar de integrare sexuală a copilului. Opțiunea finală depinde major de posibilitatea de corecție chirurgicală a structurilor genitale, mai ales când acestea au un aspect apropiat de cel masculin. Pentru adaptarea funcțională sexuală este necesară evaluarea răspunsului țesutului penian la administrarea exogenă de testosteron. Dacă acesta este negativ, este de preferat o corecție chirurgicală pe linie feminină, urmată de extirparea eventualei gonade masculine şi substituție hormonală postpubertară.

De maximă importanță rămân însă şi informarea exactă a părinților, respectiv totala cooperare a acestora.

În unele situații, explorările diagnostice trebuie continuate şi în timpul copilăriei şi adolescenței, astfel încât etiologia bolii să fie perfect elucidată, deoarece raportat la aceasta vor fi adoptate schemele terapeutice.

Terapia în stările intersexuale impune măsuri chirurgicale, hormonale şi psihologice. Corecția chirurgicală este obligatorie înainte de vârsta de 3 ani, când copilul devine conştient de apartenența sa sexuală şi impune reconstrucție genitală cu sau fără gonadectomie. Tratamentul hormonal se face postpubertar cu hormoni sexuali adecvați sexului civil. Susținerea psihologice este necesară pe parcursul întregii vieți, dar mai ales în perioada critică din adolescență.

BCU IAŞI CENTRALĂ

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

XIV. GENETICA BOLII CANCEROASE

Cancerul constituie un grup de maladii ce afectează mai multe organe şi este consecinţa unei proliferări celulare necontrolate.

Procesul neoplazic poate fi considerat rezultatul selecţiei unor celule somatice, în care a fost pierdut controlul apoptotic[148]. Astfel, cancerul presupune **acumularea unor mutaţii somatice ce favorizează proliferarea celulară.**

Cancerul este o maladie ce afectează aproximativ **1/3** din populaţia adultă în ţările dezvoltate şi contribuie în proporţie de **20-25%** la mortalitatea generală în acest segment de vârstă.

În majoritatea cazurilor, cancerul poate fi considerat o **maladie multifactorială**, cu o pondere a *factorilor ambientali* de minimum *75%*. Totuşi, *factorii genetici*, reprezentaţi de acumularea, pe parcursul vieţii, a unor mutaţii la nivelul numeroaselor gene implicate în controlul ciclului celular sau al creşterii celulare, constituie un *element decisiv* în apariţia procesului neoplazic. În aceste situaţii, mecanismul patogenic al cancerului este unul **multistadial**, presuspunând intervenţia seriată a mai multor modificări genetice.

În mai puţin de 5% din cancere, afecţiunea poate fi considerată exclusiv **genetică**, având o transmitere de tip **monogenic**. De regulă, în aceste tipuri de cancer, individul afectat moşteneşte o mutaţie generatoare a unui *sindrom cu predispoziţie genetică pentru cancer*.

Indiferent de ţesutul interesat, **celula canceroasă** se caracterizează prin:

- proliferare nelimitată (imortalizare) şi continuă;
- menţinerea modificărilor celulei după dispariţia agentului declanşator;
- capacitate invazivă ce determină distrugerea ţesuturilor învecinate;
- metastazare/diseminare la distanţă;
- proveniența dintr-o singură celulă anormală – *teoria monoclonală* – din care pot evolua, în mai multe etape, alte clone înrudite.

Ţinând cont de particularităţile procesului neoplazic, cancerele pot fi considerate **boli genetice**, pentru că apariţia tumorii necesită *producerea seriată a mai multor mutaţii* în gene diferite implicate în controlul creşterii, diviziunii şi morţii celulare. Genele implicate în cancer pot fi grupate în trei categorii: **oncogene, gene supresoare de tumori şi gene implicate în repararea leziunilor ADN-ului.**

---

[148] Apoptoza – moartea celulară autoprogramată

XIV.1. GENE IMPLICATE ÎN CANCER

XIV.1.1. ONCOGENE

Oncogenele sunt gene rezultate prin mutaţia unor gene normale, denumite **protooncogene**, implicate în dezvoltarea şi/sau diviziunea celulară. Mutaţia, suferită de protooncogenă, are caracter ***activator***, ceea ce duce la *exacerbarea* proceselor de creştere şi dezvoltare celulară anarhică, cu *pierderea controlului* acestor procese. Aceste mutaţii au caracter **dominant** şi sunt active la nivel celular în formă **heterozigotă**, pentru apariţia cancerului fiind suficientă prezenţa unei singure alele mutante. Oncogenele au fost iniţial identificate la unele tipuri de virusuri, fiind denumite *v-onc*. Ulterior, ele au fost depistate şi în celulele eucariote, unde sunt denumite *c-onc*. Până la momentul actual au fost identificate mai mult de 100 de tipuri de oncogene.

Din punct de vedere funcţional, protooncogenele pot fi grupate în patru categorii: factori de creştere (SIS, WNT, PDGFB); receptori membranari ai factorilor de creştere (KIT, MAS, RET); mediatori intracelulari implicaţi în transferul informaţiei spre nucleu (ABL, RAS, RAF) şi factori de transcripţie nucleari (MYC, MYB, FOS) (figura XIV.1).

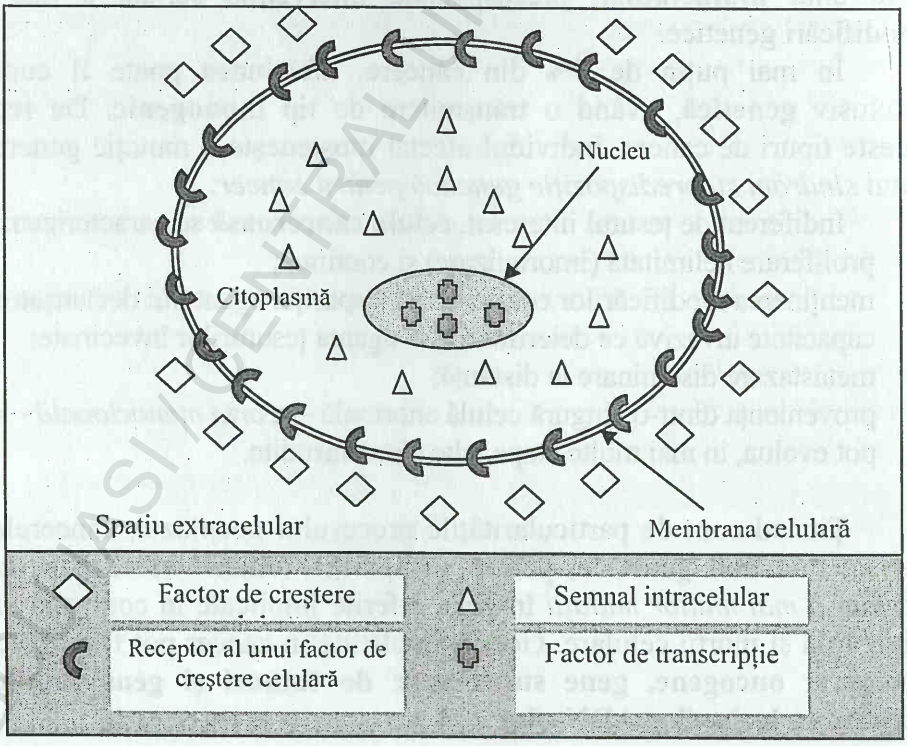


Figura XIV.1. Funcţiile oncogenelor

Oncogenele pot favoriza dezvoltarea procesului tumoral pe mai multe căi: dereglarea transferului informațional în celulă, dereglarea ciclului celular, dereglarea proceselor implicate în apoptoză sau modificarea angiogenezei şi a aderenței celulare, ceea ce favorizează proliferarea locală a neoplaziei şi metastazarea.

Modificările mutaționale implicate în apariția oncogenelor pot fi împărțite în trei categorii: mutații punctiforme activatoare, amplificări genice şi translocații cromosomice.

Mutații punctiforme survenite la nivelul unei protooncogene pot activa gena respectivă, transformând-o într-o oncogenă. Un exemplu de astfel de mutație a fost identificată în familia genelor RAS. Acestea codifică proteine cu acțiune GTP-azică şi intervin în transferul informației de la receptorul membranar de tip proteină G la nucleu. În mod normal proteinele RAS formează un complex cu acizii guanozinici. Transferul informației de la receptor la nucleu implică activarea complexului prin trecerea de la RAS-GDP la RAS-GTP. Astfel, este activată o protein-kinază, care transmite informația spre nucleu. Datorită acțiunii GTP-azice a proteinei RAS, complexul RAS-GTP este instabil şi se dezactivează rapid la RAS-GDP. În cazul mutațiilor genelor RAS, activitatea GTP-azică a proteinei este diminuată sau absentă, ceea ce determină o activarea permanentă a protein-kinazei în absența semnalului extracelular, cu exacerbarea transcripțiilor nucleare (figura XIV.2., tabelul XIV.1.).

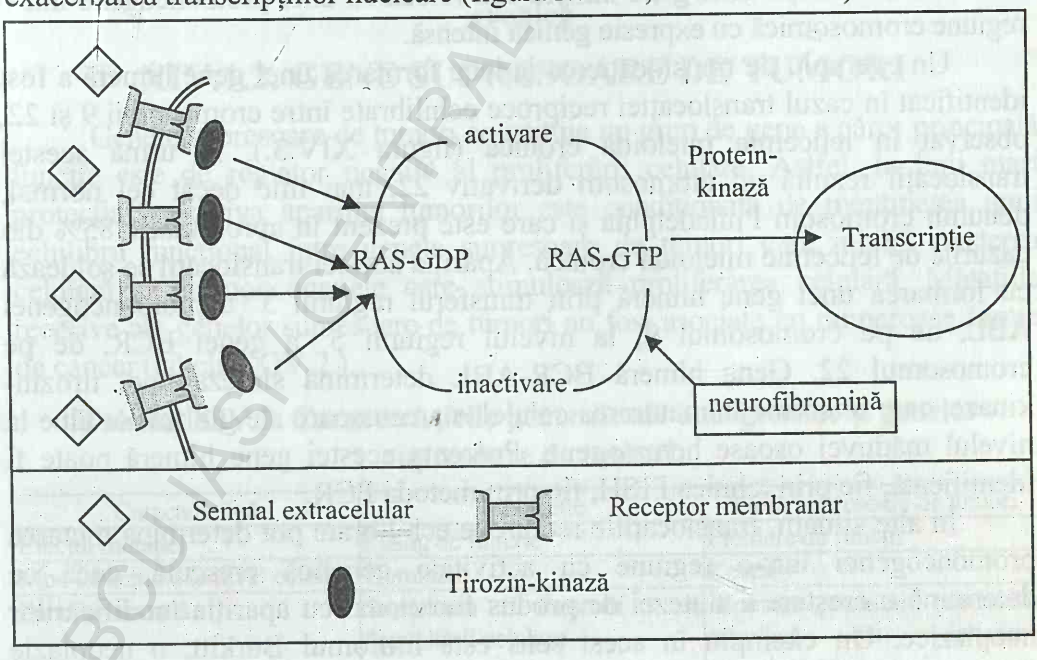


Figura XIV.2. Calea de semnalizare intracelulară mediată de proteina RAS

Tabelul XIV.1. Tipuri de oncogene implicate în cancere umane

Mecanism de activare	Oncogenă	Funcţia proteinei codificată de oncogenă	Tip de cancer
Mutaţie punctiformă	K-RAS	GTP-ază	Pancreas, colorectal
	H-RAS	GTP-ază	Vezică biliară
	N-RAS	GTP-ază	Leucemie mieloidă
Amplificare genică	NMYC	Factor de transcripţie	Neuroblastom
	ERBB2	Receptor pentru factor de creştere	Sân, ovar
	TERC	Telomerază	Diverse tipuri
Translocaţii cromosomice	BRC-ABL	Tirozin-kinază	Leucemie mieloidă cronică
	RET	Tirozin-kinază	Cancer tiroidian papilar
	CMYC	Reglator transcripţional	Limfom Burkitt

Amplificarea genică, proces incomplet elucidat, este caracterizat prin apariţia a numeroase copii ale aceleiaşi gene, ceea ce determină o creştere a sintezei proteinei codificate de gena respectivă. În condiţiile unei amplificări genice masive (prezenţa a câteva sute de copii ale genei) aceasta poate fi detectată şi prin metode citogenetice sub forma unor regiuni colorate uniform (homogenously staining regions) sau chiar a unor minicromosomi, denumiţi double minutes.

Translocaţiile cromosomice pot activa protooncogenele prin două mecanisme: apariţia unei gene himeră sau relocarea unei protooncogene într-o regiune cromosomică cu expresie genică intensă.

Un exemplu de translocaţie ce induce formarea unei gene himeră a fost identificat în cazul translocaţiei reciproce echilibrate între cromosomii 9 şi 22, observat în leucemia mieloidă cronică (figura XIV.3.). În urma acestei translocaţii rezultă un cromosom derivativ 22, mai mic decât cel normal, denumit cromosom Philadelphia şi care este prezent în aproximativ 85% din cazurile de leucemie mieloidă cronică. Apariţia acestei translocaţii se soldează cu formarea unei gene himeră prin transferul regiunii 3' a protooncogenei ABL, de pe cromosomul 9, la nivelul regiunii 5' a genei BCR, de pe cromosomul 22. Gena himeră BCR-ABL determină sinteza unei tirozin-kinaze, care intervine în maturarea celulelor precursoare ale globulelor albe la nivelul măduvei osoase hematogene. Prezenţa acestei gene himeră poate fi identificată, fie prin tehnica FISH, fie prin metoda PCR.

În alte situaţii, translocaţiile reciproce echilibrate pot determina mutarea protooncogenei într-o regiune cu activitate genetică crescută, ceea ce determină o creştere a sintezei de produs funcţional cu apariţia modificărilor neoplazice. Un exemplu în acest sens este limfomul Burkitt, o neoplazie frecventă la populaţia de origine africană. Tumora apare prin proliferarea limfocitelor B şi este determinată de o translocaţie între cromosomul 8 şi unul

dintre cromosomii 2, 14 sau 22. Astfel, protooncogena CMYC este transferată într-o zonă a genomului în care se produce o hiperexpresie genică. Apariția tumorii este favorizată de infecțiile cronice cu *Plasmodium falciparum*, sau cu virus Epstein-Barr, care induc o hiperplazie plasmocitară.

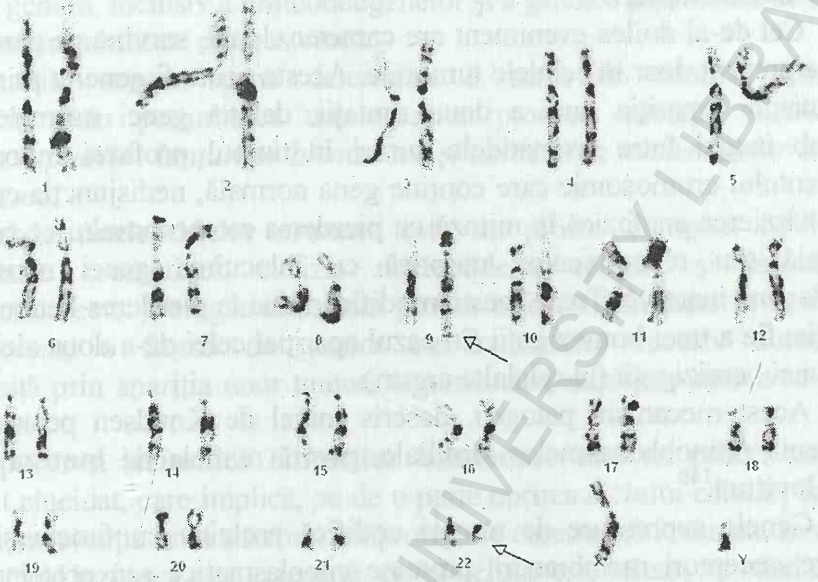


Figura XIV.3. Translocație t(9;22) la un pacient cu leucemie mieloidă cronică

XIV.1.2. GENE SUPRESOARE DE TUMORI

Genele supresoare de tumori constituie un grup de gene a căror principală funcție este de reglator negativ al proliferării celulare. Astfel, în linii mari protecția împotriva apariției tumorilor este condiționată de menținerea unui echilibru funcțional între genele supresoare de tumori care inhibă creșterea celulară și protooncogenele care stimulează proliferarea celulară. Mutațiile recesive ale genelor supresoare de tumori au fost asociate cu numeroase forme de cancer (tabelul XIV.2.).

Tabelul XIV.2. Caracteristicile generale ale oncogenelor și genelor supresoare de tumori

Caracteristică	Oncogene	Gene supresoare de tumori
Efectul mutației	Câștig de funcție	Pierdere de funcție
Mod de acțiune la nivel celular	Dominant	Recesiv
Funcția normală	Stimularea creșterii și dezvoltării celulare	Blocarea ciclului celular în interfază sau diviziune; stimularea apoptozei

BIBLIOTECA UNIVERSITY LIBRARY

Mecanismul patogen în tumorile determinate de mutaţii la nivelul genelor supresoare de tumori implică două evenimente mutaţionale. Astfel, în cazurile de cancere ereditare, o primă mutaţie este moştenită de la unul dintre părinţi. În aceste condiţii embrionul va fi heterozigot pentru mutaţia de la nivelul genei supresoare de tumori.

Cel de-al doilea eveniment are caracter clonal, survine pe parcursul vieţii şi este prezent doar în celulele tumorale. Acesta poate fi generat prin mai multe mecanisme: apariţia unei a doua mutaţii, deleţia genei normale (printr-un schimb inegal între cromatidele surori în timpul profazei mitozei) deleţia segmentului cromosomic care conţine gena normală, nedisjuncţia cromatidiană sau întârzierea anafazică în mitoză cu pierderea cromosomului ce conţine gena normală sau recombinarea mitotică cu înlocuirea genei normale cu o pseudogenă inactivă. Toate aceste modificări duc la pierderea heterozigoţiei, cu apariţia, fie a unei homozigoţii (în cazul apariţiei celei de-a doua alele mutante) fie a unei hemizigoţii (în celelalte cazuri).

Acest mecanism patogen, descris iniţial de Knudsen pentru a explica patogenia retinoblastoamelor familiale, poartă numele de **ipoteza celei de-a doua lovituri**[149].

Genele supresoare de tumori codifică proteine cu funcţii şi localizări diferite: receptori membranari, proteine citoplasmatice sau proteine nucleare. Genele supresoare de tumori sunt considerate *gene gatekeeper* (ingrijitor), întrucât codifică proteine implicate direct în controlul creşterii celulare (prin inhibarea mitozei sau stimularea apoptozei). Mutaţiile germinale ale acestor gene sunt implicate în apariţia unor forme familiale de cancere, precum sindromul Li-Fraumeni[150]. Implicarea acestor gene în controlul ciclului celular este atestată şi de faptul că acest tip de mutaţii a fost decelat şi în unele tumori sporadice. Exemple de gene *gatekeeper* sunt RB1, TP53, NF1 sau APC.

XIV.1.3. GENE IMPLICATE ÎN REPARAREA LEZIUNILOR ADN

Menţinerea integrităţii genomului reprezintă o condiţie *sine qua non* pentru conservarea şi transmiterea informaţiei genetice de la o generaţie celulară la alta sau de la părinţi la copii. În acest scop, organismul a dezvoltat un complex sistem de protecţie ce implică helicaze, endonucleaze, exonucleaze, polimeraze şi ligaze. Acestea recunosc şi corectează erorile survenite la nivelul

[149] Vezi capitolul **Bolile monogenice**

[150] Sindromul Li-Fraumeni este o afecţiune caracterizată printr-o predispoziţie genetică pentru apariţia precoce (înainte de 30 de ani) a diverse tipuri de cancer: sân, cerebral, corticosuprarenalian, limfoame, sarcoame. Afecţiunea este determinată de mutaţii la nivelul genei TP53 şi este favorizată de acţiunea radiaţiilor ionizante.

moleculelor de ADN sub acțiunea unor factori extrinseci, precum radiațiile ionizante sau agenții alchilanți, respectiv în timpul replicării ADN-ului. Aceste enzime sunt codificate de o serie de gene denumite *caretaker*. Mutațiile, cu pierdere de funcție a acestor gene, induc creşterea frecvenței mutațiilor la scara întregului genom, inclusiv a protooncogenelor şi a genelor supresoare de tumori, şi determină instabilitate cromosomică.

Mutațiile acestor gene determină o serie de cancere familiale, caracterizate prin perturbarea următoarelor procese: *excizia nucleotidică, repararea rupturilor lanțurilor bicatenare şi corectarea nucleotidelor incorect împerecheate.*

Excizia nucleotidelor eronate este un proces complex ce implică despiralizarea cromatinei, excizia nucleotidelor eronate şi introducerea nucleotidei corecte. Dereglarea acestui proces a fost identificată în *xeroderma pigementosum*, o formă de cancer cu transmitere recesiv autosomală, caracterizată prin apariția unor tumori tegumentare, după expunerea la radiații ultraviolete.

Repararea leziunilor lanțurilor bicatenare este un proces complex, incomplet elucidat, care implică, pe de o parte oprirea ciclului celular, iar pe de altă parte intervenția unui sistem multiproteic ce corectează leziunea. În condiții normale, când leziunea este corectată, ciclul celular este reluat, iar când corecția este imposibilă, se declanşează apoptoza. Mutațiile genelor ce codifică aceste proteine (de exemplu, ATM, BRCA1, BRCA2) sunt asociate cu o serie de cancere cu predispoziție genetică, a căror apariție este favorizată de acumularea de rupturi la nivelul moleculelor bicatenare de ADN.

Un exemplu de maladie asociată cu mutația unei astfel de gene este ***ataxia-telangiectazia***. Boala are transmitere recesivă autosomală şi este cauzată de mutația genei ATM, fiind caracterizată la nivel molecular prin imposibilitatea blocării ciclului celular în condițiile apariției unor leziuni ale ADN-ului după expunere la radiații. Maladia se manifestă clinic prin *ataxie cerebeloasă* (mers dezordonat secundar pierderii controlului echilibrului prin lezarea centrilor cerebeloşi) *telangiectazii* (dilatații la nivelul vaselor terminale: arteriole, venule sau capilare) şi un risc crescut de apariție a limfoamelor.

Pe parcursul replicării ADN pot surveni **erori de împerechere** a nucleotidelor între catena matriță şi catena nou sintetizată. Organismul posedă un mecanism de corecție a acestor mutații, bazat pe intervenția a mai multor enzime, care recunosc şi elimină nucleotidele incorect poziționate, înlocuindu-le cu cele normale. Mutațiile survenite în genele care codifică aceste enzime generează o creştere de aproximativ 1.000 de ori a ratei mutațiilor. Aceste mutații afectează preponderent ADN-ul înalt repetitiv de tip microsatelit, cauzând o creştere a numărului de microsateliți. O astfel de modificare a fost

decelată în mai multe tipuri de cancere, fiind denumită ca **instabilitate microsatelitară.** Prezența unei instabilități microsatelitare este caracteristică cancerului de colon non-polipozic ereditar.

XIV.2. CANCERE EREDITARE

Din punct de vedere al componentei genetice, cancerele pot fi grupate în trei categorii: *cancere ereditare* (la care ne vom raporta în continuare) *cancere familiale* şi *cancere cu predispoziție genetică.*

Cancerele ereditare au o transmitere dominant autosomală (mai rar recesivă) reprezintă cel mult 5% din totalul neoplaziilor, au incidență mică (cel mult 1/1.000 de indivizi) dar în schimb au un risc de apariție la purtătorii de mutații de cel puțin 50%.

Un cancer poate fi considerat **familial**, când în familia analizată există un număr crescut de persoane afectate, ce prezintă tumori diferite, de regulă asociate specific, iar modelul transmiterii genetice este de tip dominant cu penetranță incompletă. Aceste cancer constituie aproximativ 10% din total şi au o incidență şi un risc moderate.

Cancerele cu predispoziție genetică reprezintă restul tumorilor maligne, în condițiile în care orice modificare neoplazică implică cel puțin un eveniment genetic anormal. În aceste cazuri, există puține cazuri de boală în familie (de regulă tipuri diferite de cancer) modelul de transmitere genetică este cel poligenic (multifactorial) incidență este mare, dar riscul este mic.

Cancerele ereditare reprezintă aproximativ 5% din totalul tumorilor maligne, dar cunoaşterea lor este importantă datorită debutului precoce, agresivității crescute şi a riscului ridicat al descendenților de a moşteni predispoziția genetică pentru apariția bolii. Aceste afecțiuni apar ca urmare a unor mutații germinale ce afectează protooncogene, gene supresoare de tumori sau gene implicate în repararea leziunilor ADN-ului. Cele mai frecvente forme de cancer ereditar sunt prezentate în tabelul XIV.3.

Cancerele ereditare prezintă o serie de caracteristici generale, a căror evidențiere impune controlul şi a altor persoane din familia care ar putea avea (sau dezvolta în viitor) o neoplazie. Particularitățile generale ale cancerelor ereditare sunt prezentate în tabelul XIV.4.

În continuare vor fi prezentate câteva din cele mai frecvente cancere ereditare.

XIV.2.1. CANCERUL MAMAR EREDITAR

Cancerele mamare pot fi grupate în două categorii: *neoplazii sporadice* şi *formele ereditare.* Acestea din urmă reprezintă aproximativ 3-5% din total, fiind consecința mutației a două gene implicate în repararea leziunilor

lanțurilor bicatenare de ADN: **BRCA1** și **BRCA** 2. Cancerul mamar ereditar prezintă toate caracteristicile generale ale unui cancer ereditar: *debut precoce, afectare bilaterală și multifocală, afectarea a mai multor organe, istoric familial pozitiv*. Ambele forme de boală au o transmitere **dominant autosomală**, afecțiunea fiind prezentă, de regulă, la indivizii heterozigoți.

Tabelul XIV.3. Cancere ereditare

Boală	Genă mutantă	Locus	Tipuri de tumori
Protooncogene			
Neoplazia endocrină multiplă	RET	10q11	Carcinom tiroidian medular, feocromocitom, adenom paratiroidian
Gene supresoare de tumori			
Cancerul de colon polipozic	APC	5q21	Cancer colorectal, duodenal, gastric
Sindromul Li-Fraumeni	TP53	17p13	Tumori cerebrale, de sân, sarcoame, leucemii
Retinoblastomul	RB1	13q1	Retinoblastom, osteosarcom
Sindromul von Hippel-Lindau	VHL	3p25	Hemangioblastoame în SNC, feocromocitom
Neurofibromatoza tip 1	NF1	17q11	Neurofibroame, tumori ale SNC
Neurofibromatoza tip 2	NF2	22q12	Tumori ale SNC, schwanoame vestibulare
Gene implicate în repararea leziunilor ADN			
Cancer de san familial tip 1	BRCA1	17q21	Cancer de sân, ovar
Cancer de san familial tip 2	BRCA2	13q12	Cancer de sân, ovar
Cancerul de colon non-polipozic ereditar	MLH1 MSH2	3q21 2p16	Cancer colorectal, endometric, gastric, biliar

Tabelul XIV.4. Caracteristicile generale ale cancerelor ereditare

Debut precoce
Afectare bilaterală
Tumori multifocale
Prezența a mai mult de două tumori rare la același bolnav
Cel puțin două persoane din familie care au același tip rar de tumoră
Mai multe persoane din familie au același tip frecvent de tumoră (de exemplu cancer de colon) sau prezintă tumori înrudite (de exemplu, cancer de sân și cancer de ovar)

Mutațiile genei **BRCA1** au fost depistate în aproximativ **50%** din cazurile de cancer mamar ereditar. Prezența mutației la o ***femeie*** heterozigotă se asociază cu un risc de **50%** de a dezvolta o tumoră *mamară* până la vârsta de 50 de ani și cu un risc de **85%** de apariție a cancerului până la 70 de ani. În plus aceste mutații determină un risc crescut, de aproximativ **40-60%**, de

a dezvolta o tumoră *ovariană*. La ***bărbaţii*** heterozigoţi pentru mutaţia BRCA1 a fost identificat un risc pentru cancerul de *prostată* de **6-10%** până la vârsta de 75 de ani.

Mutaţiile genei **BRCA2** au fost decelate în aproximativ **30%** din cazurile de cancer mamar ereditar. Prezenţa mutaţiei la o ***femeie*** heterozigotă se asociază cu un risc de **50%** de a dezvolta o tumoră *mamară* până la vârsta de 50 de ani şi cu un risc de **85%** de apariţie a cancerului până la 70 de ani. În plus aceste mutaţii determină un risc crescut, de aproximativ **40-60%**, de a dezvolta o tumoră *ovariană*. La ***bărbaţii*** heterozigoţi pentru mutaţia BRCA2 a fost identificat un risc pentru cancerul de *prostată* de **6-10%** până la vârsta de 75 de ani. Spre deosebire de mutaţiile genei BRCA1, cele ale genei BRCA2 sunt asociate la bărbaţi cu un risc de aproximativ **5%** de a face un cancer *mamar*.

În cazul persoanelor cu risc crescut, din familiile cu cazuri de cancer mamar ereditar, trebuie aplicate o serie de **măsuri profilactice**, care vizează depistarea precoce a tumorilor. Aceste măsuri constau în determinarea prezenţei sau absenţei mutaţiilor BRCA1 sau BRCA2.

Dacă există mutaţia, după vârsta de 25 de ani este necesară examinarea clinică, cel puţin, anuală a glandelor mamare, asociată cu mamografie de control odată la 5 ani (până la 35 ani) şi apoi la intervale de 1 an.

De asemenea, trebuie examinate cu atenţie gonadele, anual, prin ecografie ovariană cu sondă transvaginală. La bărbaţii purtători de mutaţie BRCA2 este necesar controlul periodic al sânilor, în timp ce la bărbaţii purtători de mutaţii BRCA1 sau BRCA2 este importantă evaluarea periodică a prostatei.

La pacientele cu mutaţii BRCA1 sau BRCA2 la care a fost depistată precoce o tumoră mamară sau ovariană, se impune un ***tratament agresiv*** bazat pe chimioterapie, radioterapie şi exereză chirurgicală a glandelor mamare şi a ovarelor. Ulterior, se face plastie mamară pentru a limita efectele psihologice negative ale absenţei glandelor mamare.

XIV.2.2. CANCERELE EREDITARE DE COLON

La nivelul capătului terminal al tractului digestiv pot fi decelate două tipuri de cancere ereditare: *polipoza adenomatoasă familială şi cancerul de colon non-polipozic ereditar.*

XIV.2.2.1. POLIPOZA ADENOMATOASĂ FAMILIALĂ

Polipoza adenomatoasă familială, denumită şi *polipoză adenomatoasă de colon* este o afecţiune cu o incidenţă de aproximativ 1/10.000 de indivizi. Persoanele afectate dezvoltă pe parcursul vieţii ***numeroşi polipi*** localizaţi la nivelul colonului sau rectului. În majoritatea cazurilor, cel puţin unul dintre

aceşti polipi prezintă o degenerare malignă, astfel încât în momentul depistării polipozei colice se impune profilactic exereza chirurgicală a întregului colon. La unii pacienţi, polipoza adenomatoasă de colon este însoţită de osteoame mandibulare, numeroşi chişti sebacei şi tumori desmoide, asociere caracteristică ***sindromului Gardner***.

Polipoza adenomatoasă familială şi sindromul Gardner sunt determinate de ***mutaţii inactivatoare*** la nivelul genei **APC**, localizată 5q21. Aceste mutaţii au fost identificate în mai mult de 80% dintre polipozele familiale. Apariţia unei mutaţii *de novo* în linia germinală a unuia dintre părinţi (1/3 din cazuri) sau moştenirea unei gene mutante de la unul dintre aceştia constituie primul element al mecanismului patogenic, aspect asociat cu dezvoltarea polipilor. Apariţia unei a doua mutaţii pe alela normală sau pierderea genei normale, reprezintă evenimentele ce transformă tumora benignă (polipul) într-o tumoră malignă.

Gena APC este o ***genă supresoare de tumori***, iar proteina codificată reglează acţiunea β-cateninei, intervenind astfel în: semnalizarea intracelulară, adeziunea intercelulară, formarea citoscheletului microtubular sau reglarea ciclului celular. În condiţiile în care proteina APC este deficitară (cantitativ sau calitativ) β-catenina activează o serie de factori transcripţionali, generând o stimulare a expresiei genice, inclusiv în unele protooncogene, precum gena CYMC.

Studiile moleculare au indicat că mutaţiile localizate spre capătul 5' al genei APC sunt mai puţin grave, fiind asociate cu apariţia unui număr mai redus de polipi şi cu o transformare malignă mai tardivă. Pe de altă parte, mutaţiile localizate spre capătul 3' al genei sunt mai grave, fiind asociate cu apariţia fenotipului de sindrom Gardner. Totuşi, indiferent de localizare, mutaţiile la nivelul genei APC induc formare de polipi la nivelul colonului, iar aceştia au risc de degenerare malignă.

In cazul identificării unei persoane afectate de polipoză adenomatoasă familială, riscul acestuia de a transmite mutaţia la descendenţi este de 50%. In aceste condiţii este necesar un diagnostic molecular pentru detecţia mutaţiei la copii. Această testare este util a fi efectuată în jurul vârstei de 10 ani, iar dacă este detectată mutaţia, este preferabilă exereza profilactică a colonului până la vârsta de 20 de ani.

In situaţiile în care explorarea moleculară este imposibilă, trebuie efectuat un screening clinic prin *sigmoidoscopie*. Acesta ar trebui să înceapă de la vârsta de 10 ani, să fie efectuat anual până la 24 de ani, apoi la 2 ani în intervalul de vârstă 24-35 de ani, respectiv la 3 ani după această vârstă. In condiţiile în care este depistată apariţia de polipi se impune colectomie totală.

XIV.2.2.2. CANCERUL DE COLON NON-POLIPOZIC EREDITAR

Cancerul de colon non-polipozic ereditar, denumit şi *sindrom Lynch*, este una din cele mai frecvente neoplazii ereditare. Incidenţa lui variază în intervalul 1/1.000 - 1/3.000 de persoane şi reprezintă aproximativ 5-6% din toate formele de cancer de colon.

Această formă de cancer de colon este determinată de o mutaţie la nivelul unei gene implicate în corecţiei împerecherilor nucleotidice eronate din timpul replicării, mutaţie care fie este moştenită de la unul dintre părinţi, fie apare *de novo* în gametogeneza unuia dintre genitori. Principalele gene mutante identificate în cancerul de colon non-polipozic ereditar sunt **MLH1** şi **MSH2**, depistate în aproximativ 85% din tumorile de acest tip. Alte gene mutante asociate cu această formă de cancer sunt: **MSH3**, **MSH6** sau **PMS2**. În cazul existenţei oricăreia dintre aceste mutaţii se produce o *instabilitate microsatelitară*, determinată de creşterea numărului de repetiţii microsatelitare.

Clinic, cancerul de colon non-polipozic ereditar este caracterizat prin debutul precoce al afecţiunii (vârsta medie de depistare 42 de ani), localizarea preponderentă la nivelul colonului ascendent şi existenţa mai multor tumori primare diseminate de-a lungul colonului.

Confirmarea dianosticului de cancer de colon non-polipozic ereditar este susţinută şi de istoricul familial pozitiv, respectiv de depistarea moleculară a instabilităţii micrasatelitare.

Persoanele care moştenesc o mutaţie la nivelul uneia dintre genele enumerate mai sus au un risc de **90%** la ***bărbaţi*** şi de **60%** la ***femei*** de a dezvolta până la vârsta de 70 ani un *cancer de colon*. De asemenea, aceşti indivizi au un risc crescut de a face o altă formă de *cancer digestiv* (gastric, de intestin subţire, de căi biliare) sau un cancer de căi urinare. În plus, ***femeile*** au un risc de aproximativ **40-60%** de a dezvolta o neoplazie *endometrială*.

Monitorizarea evoluţiei bolii la persoanele cu risc crescut (rudele apropiate ale unei persoane diagnosticată cert cu cancer de colon non-polipozic ereditar) impune mai multe categorii de măsuri. Principala măsură profilactică o reprezintă *colonoscopia*, care trebuie făcută la 1-3 ani, începând cu vârsta de 20-25 de ani. Profilaxia tumorilor endometriale se bazează pe explorarea ecografică transvaginală, respectiv examinarea histopatologică a celulelor endometriale obţinute prin aspiraţie. În cazul depistării unei tumori de colon este indicată colectomia totală, în timp ce descoperirea unei tumori de endometru necesită, ca măsură profilactică, histero-salpingo-ooforectomia bilaterală.

XIV.2.3. NEUROFIBROMATOZELE

Neurofibromatozele constituie un grup de boli genetice caracterizate printr-o predispoziție pentru apariția de tumori benigne și maligne la nivelul componentelor sistemului nervos central sau periferic. Există două tipuri de boală, distincte atât genetic, cât și clinic: **neurofibromatoza tip 1** și **neurofibromatoza tip 2.**

XIV.2.3.1. NEUROFIBROMATOZA TIP 1

Neurofibromatoza tip 1, denumită și *boala von Recklinghausen*, are o transmitere dominant autosomală și afectează aproximativ 1 la 3000 indivizi.

Afecțiunea este determinată de mutații la nivelul unei *gene supresoare de tumori* - gena **neurofibrominei**, localizată 17q11.2. Această genă codifică o proteină cu proprietăți GTP-azice, care intervine în reglarea căii RAS de transmitere intracelulară a informației. Astfel, în prezența unei neurofibromine normale este stimulată transformarea complexului RAS-GTP în complex RAS-GDP, cu reducerea expresiei genice în nucleu (figura XIV.2.). Majoritatea mutațiilor la nivelul genei neurofibrominei determină sinteza unei *proteine trunchiate*. Mai puțin de 5% din cazuri sunt generate de absența completă a genei, dar acestea sunt cele mai grave, având un potențial de malignizare sporit. Absența sau prezența unei neurofibromine anormale are efecte negative asupra celulei, determinând o hiperexpresie genică, răspunzătoare de apariția tumorilor.

Clinic, afecțiunea se caracterizează prin prezența pe tegumente a numeroase pete rotund-ovalare de culoare *café-au-lait*, a numeroși pistrui în regiunile axilară și inghinală și a mai multor tumori benigne – **neurofibroame** – de mici dimensiuni, localizate pe traiectul nervilor periferici și care proemină la suprafața pielii. În aproximativ 50% din cazuri există riscul ca unul din neurofibroame să prezinte o invazie locală, transformându-se într-un neurofibrom plexiform. Pacienții afectați de neurofibromatoză pot prezenta tumori benigne și la nivelul nervilor cranieni, precum glioame ale nervului optic. În aproximativ 5% din cazuri, există riscul de apariție a unei tumori maligne la nivelul sistemului nervos (neurofibrosarcoame, neuroblastoame, ependimoame) sau a unui alt tip de cancer (feocromocitom, tumori carcionide duodenale, rabdomiosarcom, nefroblastom, leucemie mielomonocitară, mielodisplazie). Alte manifestări clinice sunt tulburările de învățare sau scolioza.

Existența unei mutații la nivelul genei neurofibrominei impune o serie de măsuri ce vizează monitorizarea evoluției bolii. Astfel, este necesar un examen neurologic periodic sau oricând apar semne/simptome ce indică o afectare a sistemului nervos central (cefalee, deficite vizuale, scăderea

acuității auditive). De asemenea, este utilă măsurarea tensiunii arteriale cel puțin bianual pentru a depista cât mai precoce un feocromocitom.

XIV.2.3.2. NEUROFIBROMATOZA TIP 2

Neurofibromatoza tip 2 este o boală genetică dominant autosomal, mult mai rară decât neurofibromatoza tip 1, afectând 1/35.000-1/40.000 de indivizi.

Boala este cauzată de mutațiile unei *gene supresoare de tumori* - gena **NF2** - localizată 22q12.2 care codifică o proteină a citoscheletului numită *merlină*. Merlina intervine în stabilizarea intercațiunilor intercelulare şi are rol de supresie tumorală, controlând adeziunea celulară. În 50% din cazuri, mutațiile sunt moştenite de la unul dintre părinți, iar restul sunt mutații *de novo* produse în gametogeneza unuia dintre părinți. În majoritatea cazurilor, mutațiile în gena NF2 determină sinteza unei *proteine truncheate*.

Diagnosticul clinic al afecțiunii este susținut de descoperirea unei tumori pe cea de-a opta pereche de nervi cranieni, la nivelul ramurii vestibulare. În majoritatea cazurilor, tumorile sunt bilaterale, de tip *schwannom* şi apar înainte de 30 de ani. De asemenea, pot fi detectate şi tumori la nivelul sistemului nervos central, de tipul glioamelor sau meningioamelor. Aceste tumori, deşi sunt benigne au o evoluție proastă, datorită localizării care este greu de abordat neurochirurgical. Spre deosebire de neurofibromatoza tip 1, în neurofibromatoza de tip 2 numărul de neurofibroame şi cel al petelor *café-au lait* este mai scăzut.

La purtătorii de mutație în gena NF2, riscul de apariție al unei tumori este foarte mare, astfel că 95% dintre pacienți prezintă cel puțin o tumoră până la vârsta de 50 de ani, ceea ce atestă o penetranță incompletă dar foarte ridicată.

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

XV. SFATUL GENETIC

Termenul de **sfat genetic** a fost introdus în 1947 pentru a descrie relația dintre genetician și acei cărora le furnizează informații referitoare la etiologia, evoluția și riscul de recurență în bolile ereditare.

Conform Societății Americane de Genetică Umană, sfatul genetic reprezintă un proces de comunicare, corelat cu problemele umane legate de apariția și riscul de recurență al unei boli genetice în familie. Astfel, în acordarea sfatului genetic, medicul genetician are mai multe sarcini:

- stabilirea exactă a diagnosticului afecțiunii și a modalităților de influențare a modului de evoluție a bolii;
- stabilirea ponderii factorilor genetici în determinismul bolii;
- determinarea riscului de recurență al afecțiunii, dependent de tipul de transmitere al bolii;
- discutarea cu membrii familiei a opțiunilor reproductive, respectând autonomia și conceptele religioase sau etnice ale familiei – **geneticianul sfătuiește familia, dar nu el este cel care ia decizia** (principiul *nondirectiv*);
- asigurarea unui suport psihologic adecvat necesar datorită impactului major al bolii asupra pacientului și membrilor familiei acestuia.

XV.1. CIRCUMSTANȚE DE ACORDARE A SFATULUI GENETIC

Sfatul genetic poate fi acordat în mai multe cazuri, dar cel mai frecvent acest lucru se întâmplă în cazul apariției unui *copil afectat de o boală genetică* sau în cazul în care cuplul consultant prezintă numeroase *eșecuri reproductive* (avorturi spontane repetate și/sau nou-născuți morți plurimalformați). Circumstanțele de acordare a sfatului genetic pot fi împărțite în două categorii: *sfat genetic premarital* și *sfat genetic postmarital.*

Sfatul genetic premarital poate fi acordat în următoarele situații: unul sau ambii membri ai cuplului sunt afectați de o boală genetică (tabelul XV.1.) în familia unuia dintre viitorii soți există cazuri de boală genetică, viitorul cuplu este consanguin, femeia are vârsta mai mare de 35 de ani, unul dintre membrii cuplului prezintă o anomalie cromosomică structurală echilibrată, unul sau ambii membri ai viitorului cuplu lucrează într-un mediu mutagen.

Sfatul genetic postmarital este acordat de obicei în următoarele circumstanțe: cuplul consultant are un copil afectat de o boală genetică, cuplul prezintă tulburări reproductive manifestate prin sterilitate (masculină,

feminină sau de cuplu) sau infertilitate (avorturi spontane repetate sau nounăscuți morți malformați sau nu).

Tabelul XV.1. Afecțiuni pentru care este solicitat sfatul genetic

Anomalii congenitale unice majore (spina bifida, malformații cardiace congenitale, despicătură labio-palatină, anencefalie)
Anomalii congenitale multiple sindromice sau nu
Ambiguitate sexuală
Debilitate mentală de cauză neprecizată
Tulburări de creştere şi dezvoltare
Afecțiuni monogenice dominante sau recesive
Erori înnăscute de metabolism
Cancere familiale cu debut precoce

XV.2. ETAPELE ACORDĂRII SFATULUI GENETIC

Etapele acordării sfatului genetic sunt prezentate în figura XV.1. Acordarea sfatului genetic începe prin stabilirea cu exactitate a **diagnosticului afecțiunii**. Aceasta impune un examen clinic detaliat care permite depistarea de semne minore de boală sau a unor particularități dismorfice. În multe cazuri, caracterul dismorfic reprezintă o valoare extremă a unui caracter normal şi de aceea este necesară definirea şi măsurarea exactă a acestuia.

După efectuarea examenului clinic de către genetician, acesta trebuie completat cu examene în diverse specialități medicale, pentru a surprinde detaliile caracteristice fiecărui organ afectat. În continuare, diagnosticul clinic trebuie confirmat prin examene paraclinice.

Cea de-a doua etapă a sfatului genetic o constituie **identificarea componentei genetice,** implicate în determinismul afecțiunii analizate.

În stabilirea naturii genetice a unei afecțiuni de maximă importanță rămâne efectuarea **anchetei familiale**. Anamneza familială este structurată în trei etape: materno-fetală, neo-natală şi postnatală.

Anamneza materno-fetală vizează obținerea a două categorii de date: referitoare la momentul concepției (antecedente reproductive, vârsta parentală, boli cronice materne, expunerea la noxe, etc.) respectiv evoluția sarcinei. *Anamneza neonatală* asigură obținerea de date despre tipul şi durata naşterii, date morfometrice neonatale, prezența de afecțiuni neonatale. *Anamneza postnatală* se axează pe două categorii de informații: dezvoltarea psiho-motorie şi dezvoltarea pubertară.

După încheierea anamnezei familiale se întocmeşte **arborele genealogic**, etapă de regulă greu de realizat, datorită lipsei de informații sau a informațiilor eronate furnizate de proband (consultant). Arborele genealogic trebuie să cuprindă cel puțin trei generații, iar în cadrul generației

din care face parte probandul (consultantul) este necesar a fi notate toate rudele de gradul I şi II.

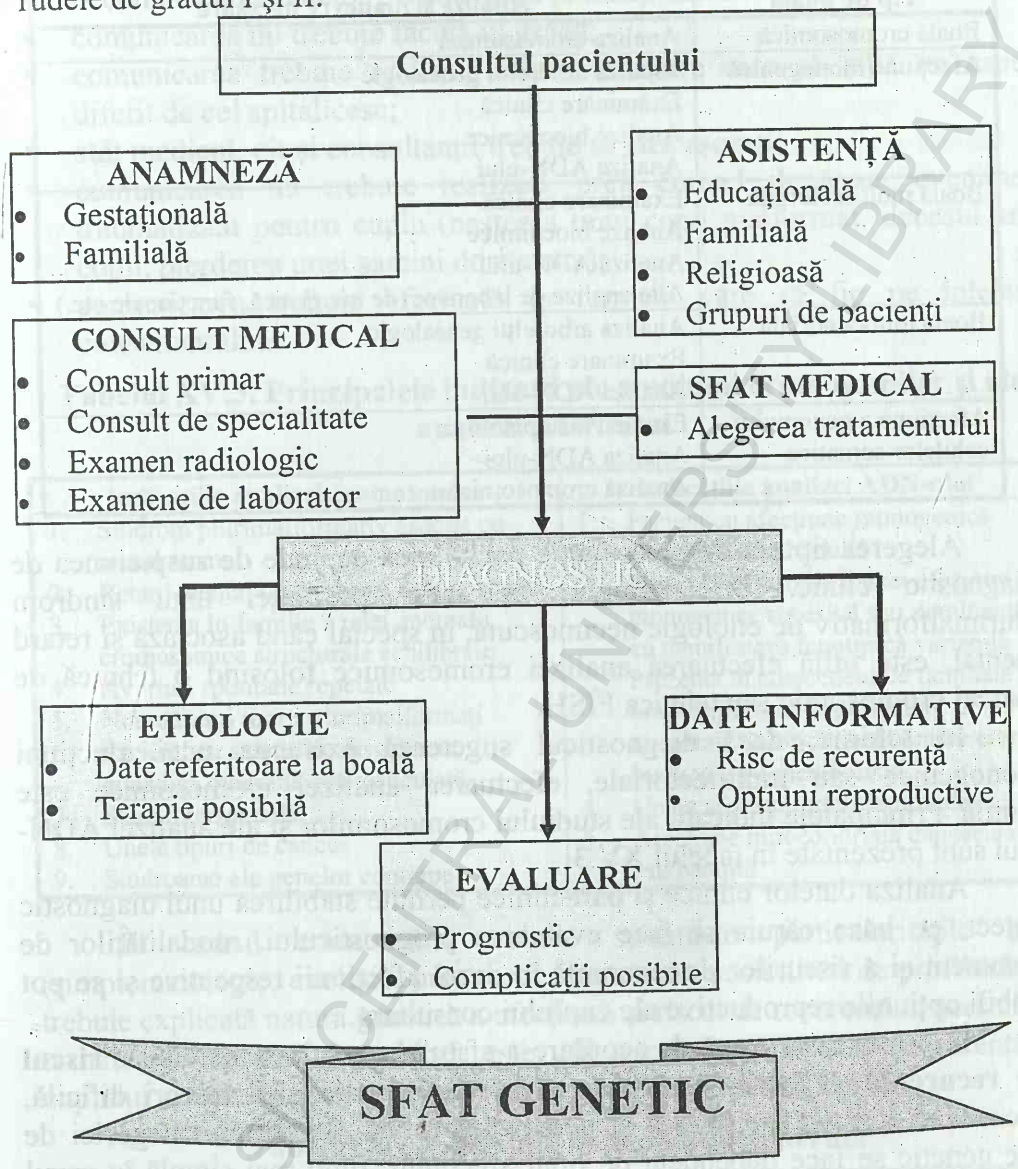


Figura XV.1. Etapele acordării sfatului genetic

Datorită frecvenţei reduse a majorităţii afecţiunilor genetice şi a numărului crescut de astfel de boli, pentru stabilirea unui diagnostic corect este utilă consultarea programelor de diagnostic computerizat (POSSUM, OMDM) sau a unor situri de internet (OMIM, ORFANET).

Pentru **identificarea componentei genetice** se pot realiza diferite investigaţii paraclinice dependent de tipul de boală suspectat (tabelul XV.2.).

UMF IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Tabelul XV.2. Identificarea tipului de boală genetică

Tip de boală	Analize şi manevre necesare
Boală cromosomică	Analiza cromosomică
Afecţiune monogenică	Analiza arborelui genealogic Examinare clinică Analize biochimice Analiza ADN-ului
Boală multifactorială	Examinare clinică Analize biochimice Analiza ADN-ului Alte analize de laborator (de imagistică, funcţionale etc.)
Boală mitocondrială	Analiza arborelui genealogic Examinare clinică Analiza ADN-ului
Afecţiune a genomului celulelor somatice	Examen histopatologic Analiza ADN-ului Analiză cromosomică

Alegerea tipului de investigaţie paraclinică depinde de suspiciunea de diagnostic clinic. De exemplu, în cazul prezenţei unui sindrom plurimalformativ de etiologie necunoscută, în special când asociază şi retard mental, este utilă efectuarea analizei cromosomice folosind o tehnică de marcaj cromosomic sau tehnica FISH.

În schimb, dacă diagnosticul sugerează existenţa unei afecţiuni monogenice sau multifactoriale, efectuarea analizei cromosomice este inutilă. Principalele indicaţii ale studiului cromosomilor şi ale analizei ADN-ului sunt prezentate în tabelul XV.3.

Analiza datelor clinice şi paraclinice permite stabilirea unui diagnostic corect, pe baza căruia se face evaluarea prognosticului, modalităţilor de tratament şi a riscurilor de recurenţă în cazul afecţiunii respective şi se pot stabili opţiunile reproductive ale cuplului consultant.

În următoarea etapă de acordare a sfatului genetic se stabileşte **riscul de recurenţă al bolii**. Aceasta este o etapă crucială şi deseori dificilă, necesitând o pregătire clinică şi genetică specială. Stabilirea categoriei de risc genetic se face dependent de tipul afecţiunii, fiind mai simplă în cazul bolilor cu transmitere monogenică sau mitocondrială şi deosebit de dificilă în bolile multifactoriale şi în unele afecţiuni cromosomice. Riscurile genetice pot fi clasificate în cinci categorii: total, foarte mare, mare, moderat şi mic.

Ultima etapă a acordării sfatului genetic o constituie **comunicarea concluziilor**. Aceasta trebuie realizată de o echipă complexă şi necesită stabilirea unei relaţii psihologice adecvate cu membrii cuplului consultant. Rezultatele trebuie comunicate, atât oral, cât şi scris. Comunicarea orală

impune o serie de condiții, astfel încât impactul psihologic să fie minim:

- la comunicarea datelor trebuie să fie prezenți ambii membri ai cuplului;
- comunicarea nu trebuie făcută în grabă;
- comunicarea trebuie realizată într-o încăpere care să aibă un aspect diferit de cel spitalicesc;
- atât medicul, cît şi consultanții trebuie să stea aşezați;
- comunicarea nu trebuie realizată prea curând după un eveniment traumatizant pentru cuplu (naşterea unui copil malformat, decesul unui copil, pierderea unei sarcini dorite etc.);
- comunicarea trebuie efectuată în termeni care să fie pe înțelesul consultantului.

Tabelul XV.3. Principalele indicații ale studiului cromosomilor şi ale analizei ADN-ului

Indicațiile analizei cromosomice	Indicațiile analizei ADN-ului
1. Sindrom plurimalformativ asociat cu retard mental	1. Pacient cu afecțiune monogenică cunoscută sau bănuită
2. Retard mental de etiologie necunoscută	2. Prezența în familie a unei afecțiuni monogenice recesivă sau dominantă cu manifestare fenotipică variabilă
3. Existența în familie a unei anomalii cromosomice structurale echilibrate	3. Prezența în antecedentele familiale a unui copil mort în perioada neonatală datorită unei bănuite erori înnăscute de metabolism
4. Avorturi spontane repetate	4. Unele afecțiuni multifactoriale
5. Nou-născuți morți plurimalformați	5. Afecțiune mitocondrială cunoscută sau bănuită
6. Pacienți cu semne de disgenezie gonadică ovariană sau testiculară	
7. Stare intersexuală	
8. Unele tipuri de cancer	
9. Sindroame ale genelor contigue	

În cadrul comunicării trebuie subliniate particularitățile bolii (simptomatologie, evoluție, prognostic, tratament, posibilități de profilaxie) şi trebuie explicată natura genetică a afecțiunii şi riscul de recurență al acesteia la următoarele sarcini. De obicei, este util a compara riscul de recurență al cuplului cu riscurile prezente în populația generală (tabelul XV.4.).

Tabelul XV.4. Riscuri în populația generală

Afecțiune	Risc general
Cancer în perioada adultă	1/4
Avort spontan	1/6
Malformații congenitale majore	1/33
Handicap mental major	1/50
Deces perinatal	1/30 – 1/100
Deces neonatal	1/150
Deces în primul an de viață	1/500

Un alt aspect important este acela de a combate o serie de "*false adevăruri*" referitoare la afecţiunile ereditare (tabelul XV.5.).

Tabelul XV.5. *False adevăruri* referitoare la afecţiunile ereditare

Absenţa altor cazuri de boală în familie înseamnă că boala nu este ereditară şi viceversa
Orice afecţiune congenitală este şi genetică
Traumele mentale sau psihice în cursul sarcinei produc malformaţii
Toate bolile genetice sunt netratabile
Dacă în familie există doar femei sau bărbaţi afectaţi boala are transmitere legată de un cromosom sexual
Dacă cuplul consultant are un copil afectat de o boală recesivă, înseamnă că următorii trei copii vor fi sănătoşi deoarece riscul de recurenţă este de 1/4
Toate bolile genetice pot fi detectate prin analiză cromosomică

După comunicarea riscului de recurenţă geneticianul trebuie să comunice consultanţilor opţiunile reproductive, dependent de nivelul riscului. În condiţiile în care riscul nu este mult diferit de cel existent în populaţia generală trebuie combătută teama nejustificată. În schimb, dacă riscul de recurenţă este important (mare, foarte mare sau total) trebuie luate în discuţie alte opţiuni reproductive (figura XV.2.).

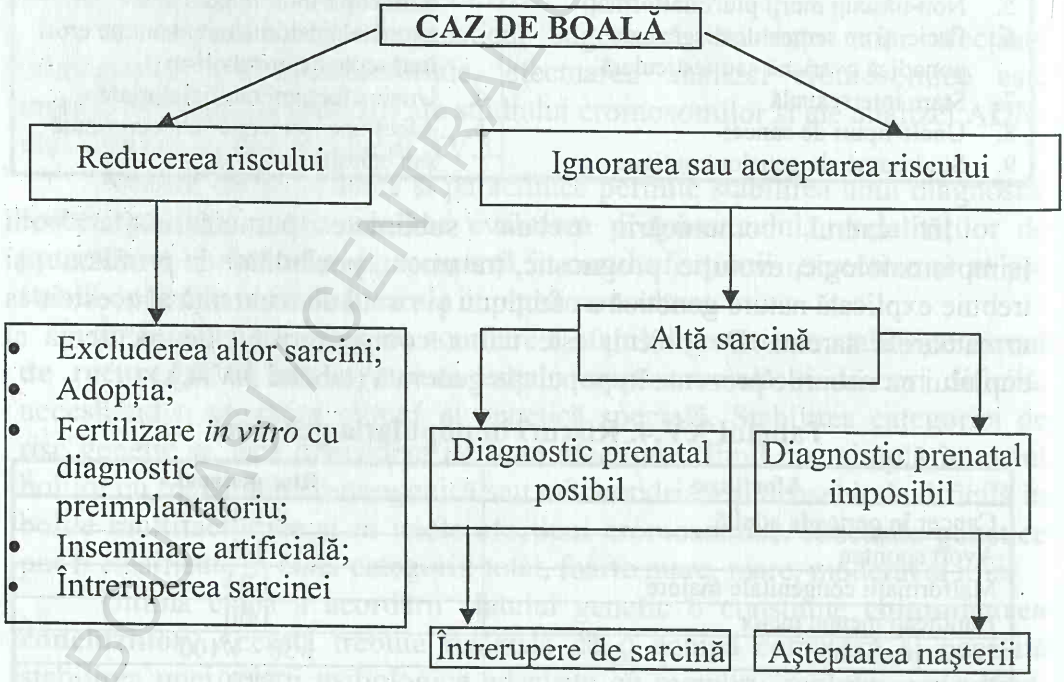


Figura XV.2. Opţiunile reproductive în cazul prezenţei unei afecţiuni genetice

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Când riscul nu este total, iar diagnosticul prenatal al bolii este adecvat, cuplul poate să aibă o nouă sarcină, în condițiile în care este posibilă eliminarea produsului de concepție afectat. Dacă pacienții sunt hotărâți să nu aibă un alt copil, este obligatorie conseierea contraceptivă, cu scopul de a alege metoda optimă.

Un aspect deosebit al sfatului genetic este acela că **medicul sfătuieşte cuplul consultant, dar nu ia decizii în locul acestuia**. Important este ca membrii cuplului consultant să conştientizeze toate implicațiile bolii şi să ia deciziile cunoscând toate informațiile referitoare la aceasta.

XV.3. RISCUL DE RECURENȚĂ ÎN BOLI GENETICE

XV.3.1. RISCUL GENETIC ÎN BOLI CROMOSOMICE

Sfatul genetic în bolile cromosomice prezintă dificultăți legate de tipul anomaliei cromosomice, sexul pacientului la care este prezentă anomalia, gradul de afectare al reproducerii, modalitatea de segregare al cromosomilor în cursul meiozei şi viabilitatea produşilor de concepție.

XV.3.1.1. Sfatul genetic în familiile cu boli cromosomice

În cazul existenței unui pacient cu o aneuploidie este important a determina tipul anomaliei, deoarece aceasta influențează riscul de recurență al bolii la următorii descendenți ai părinților pacientului.

Un exemplu în acest sens îl reprezintă sindromul Down, al cărui diagnostic clinic este foarte uşor de stabilit, dar la care riscul de recurență depinde de tipul anomaliei.

În cazul **trisomiei 21 libere omogene** un factor esențial pentru calcularea riscului de recurență îl reprezintă vârsta maternă în momentul concepției. Datele epidemiologice au evidențiat existența unei corelații între vârsta maternă crescută şi incidența sindromului Down la copii acestor femei (tabelul XV.6.).

Din tabelul XV.6. se poate observa că riscul de sindrom Down, prin trisomie 21 liberă omogenă, la descendenții unei femei este de **0,1%** la 30 de ani, de **0,3%** la 35 de ani şi de **1%** la 40 de ani, ceea ce reflectă o creştere geometrică a riscului după vârsta de 30 de ani. Practic, se poate considera că la femeile sub 30 de ani riscul de recurență al sindromului Down este nesemnificativ.

În cazurile în care există un copil cu sindrom Down prin trisomie 21 liberă omogenă, riscul de recurență la următoarele sarcini este de aproximativ 1%, justificând efectuarea analizei cromosomice prenatale la următoarele sarcini.

Tabelul XV.6. Corelaţia între vârsta maternă în momentul concepţiei şi riscul de sindrom Down la descendenţi

Vârsta maternă (ani)	Prevalenţa sindromului Down la naştere	
	‰	1/ nn
20	0,65	1560
25	0,74	1350
30	1,12	890
33	1,83	545
35	2,81	355
36	3,57	280
37	4,59	220
38	5,98	170
39	7,84	130
40	10,4	97
41	13,8	73
42	18,3	55
43	24,5	41
44	32,8	30
45	44,1	23
46	59,1	17
47	79,7	13
48	107	9
49	145	7
50	195	5

În cazurile de sindrom Down prin trisomie 21 în mozaic, riscul de recurenţă al afecţiunii este nesemnificativ, deoarece anomalia nu este legată de o eroare meiotică, ci de un accident mitotic în primele etape ale dezvoltării embrionare.

Prezenţa unui copil cu sindrom Down prin translocaţie Robertsoniană neechilibrată impune obligatoriu efectuarea analizei cromosomice la ambii părinţi. În cazul în care translocaţia este *de novo*, ambii părinţi având cariotip normal, riscul de recurenţă al bolii este **mai mic de 1%.**

Dacă un părinte prezintă o translocaţie Robertsoniană echilibrată riscul de recurenţă depinde de doi factori: sexul purtătorului de translocaţie şi tipul translocaţiei. În cazul în care translocaţia este prezentă la **bărbat**, riscul de recurenţă este **mai mic de 1%,** deoarece prezenţa anomaliei cromosomice induce o dereglare a formării veziculei sexuale, ceea ce cauzează blocarea meiozei masculine cu hipofertilitate sau chiar sterilitate.

În cazul în care translocaţia este prezentă la **femeie**, riscul de recurenţă depinde de tipul anomaliei. În translocaţiile Robertsoniene între cromosomi acrocentrici neomologi, riscul de naştere al unui nou copil cu sindrom Down este de **10%,** iar probabilitatea detecţiei trisomiei 21 prin

amniocenteză este de 15%. În schimb, în cazul prezenței unei translocații Robertsoniene (21;21) riscul de recurență este **total de 100%.**

În cazul celorlalte aneuploidii viabile (trisomiile 13, 18, X, XXY, XYY şi monosomia X) riscul de recurență este **mai mic de 1%,** deşi a fost posibilă stabilirea unei concordanțe între creşterea incidenței anomaliei la copii şi vârsta maternă înaintată. În aceste cazuri, este indicată efectuarea analizei cromosomice prenatale mai mult din motive psihologice.

În cazul prezenței în antecedente a unei sarcini cu făt poliploid (molă hidatiformă parțială sau totală) riscul de recurență al molei este de **1-1,5%** şi creşte la 20% dacă au existat mai mult de 2 mole hidatiforme.

XV.3.1.2.. Sfatul genetic în anomalii cromosomice structurale echilibrate

XV.3.1.2.1. Translocații reciproce echilibrate

În translocațiile reciproce echilibrate riscul purtătorului de a avea un descendent cu o anomalie cromosomică structurală neechilibrată este de circa **5-10%,** dependent de sexul purtătorului şi tipul anomaliei. Rareori, riscul depăşeşte 20% sau este nul (toți copii sunt sănătoşi sau purtători ai translocației).

În cazul bărbaților purtători de translocații echilibrate între autosomi, deseori, se poate observa afectarea gametogenezei, ce poate merge până la blocarea ei. Aceasta este consecința anomaliilor de împerechere dintre cromosomii cu translocații şi vezicula sexuală, ceea ce conduce la blocarea spermatogenezei. În schimb, meioza feminină este rareori blocată, dar poate fi afectată de infecunditate cu numeroase avorturi spontane precoce sau naşterea de copii malformați.

Tipul cromosomului implicat în translocație este important pentru viabilitatea produsului de concepție. Astfel, o trisomie 18p sau 4q este viabilă, în timp ce în alte cazuri produsul de concepție este avortat, deoarece segmentele respective conțin gene implicate în embriogeneză.

Majoritatea aneuploidiilor viabile conțin monosomii parțiale < 2% din materialul genetic al unui set haploid de cromosomi sau trisomii parțiale < 4% din materialul genetic al unui set haploid de cromosomi.

Produşii de concepție cu anomalii cromosomice intens dezechilibrate sunt avortați. Riscul unui purtător de translocații ca sarcina să se încheie prin avort spontan este de aproximativ **20-30%.**

O situație particulară apare în cazul existenței unor translocații ce implică cromosomul X, fertilitatea fiind deseori afectată. Astfel, jumătate dintre femeile purtătoare şi toți bărbații purtători ai unei astfel de translocații sunt sterili. Femeile care sunt fertile prezintă un risc înalt de a avea

descendenţi anormali, cu formulă cromosomică neechilibrată. Fenotipul copiilor afectaţi variază de la forme medii de sindrom Klinefelter sau trisomie X, până la forme severe cu disomie parţială X sau aneuploidie autosomală prin absenţa inactivării cromosomului X anormal.

Se consideră că riscul unei femei fertile purtătoare a unei translocaţii X-autosom de a avea un copil anormal este de **20-40%.**

În translocaţiile reciproce echilibrate Y-autosom bărbaţii sunt fie sterili, fie au retard mental, iar riscul de recurenţă este redus.

XV.3.1.2.2. Translocaţii robertsoniene

În cazul translocaţiilor Robertsoniene echilibrate , riscul de apariţie al unor copii anormali depinde de: **tipul anomaliei, cromosomii implicaţi şi sexul purtătorului.**

La bărbat, cromosomii derivativi pot influenţa formarea veziculei sexuale, ceea ce duce la blocarea spermatogenezei cu apariţia sterilităţii masculine. Astfel, riscul bărbaţilor este mai mic de 0,5%.

La femei riscul de a avea un descendent anormal este de aproximativ 1-1,5% pentru trisomia 13, 10-15% pentru trisomia 21 când există o translocaţie 21/D sau 21/22 şi de 100% pentru trisomia 21 când există o translocaţie 21/ 21. În cazul translocaţiilor ce implică cromosomii 14 şi 15 pot apărea la copii disomii uniparentale, dar riscul este mai mic de 0,5%.

XV.3.1.2.3. Inversii pericentrice

Riscul de recurenţă la descendenţii purtătorilor de inversii pericentrice depinde de mai mulţi factori: **tipul inversiei, cromosomii implicaţi şi lungimea fragmentelor interesate.**

Riscul general al unui pacient cu o inversie pericentrică de a avea un descendent cu anomalie cromosomică neechilibrată datorită recombinării intracromosomice este de circa **5-10%.** Riscul de apariţie al unui descendent anormal este direct proporţional cu lungimea fragmentului inversat şi invers proporţional cu lungimea fragmentelor neinversate.

Unele inversii, precum cele ale regiunii heterocromatiniene ale cromosomilor 1, 9, 16 sau Y nu prezintă însă nici un risc pentru descendenţi.

În cazul în care inversia a fost descoperită fortuit şi nu există cazuri de copii anormali în familie trebuie luaţi în considerare mai mulţi factori:

- **lungimea fragmentului inversat** - dacă lungime fragmentului este redusă riscul de recombinare este mic;
- **cromosomul implicat** - purtătorii de inversii ale cromosomilor 13, 18 sau 21, pot avea produşi de concepţie viabili cu anomalii

neechilibrate, deoarece atât monosomiile parțiale, cât și trisomiile parțiale ale acestor cromosomi sunt viabile;

În cazul inversiilor pericentrice ale cromosomului X riscul depinde de sexul purtătorului. Bărbații purtători de inversii ale cromosomului X transmit inversia la toate descendentele lor, în timp ce toți băieții vor fi normali, moștenind cromosomul X de la mamă.

Femeile purtătoare de inversie pericentrică a cromosomului X prezintă, pe de o parte un risc crescut de a dezvolta o amenoree secundară, iar pe de altă parte au un risc de circa **10-20%** de a avea copii anormali, cu fenotip de sindrom Turner, datorită recombinării la nivelul buclei de inversie.

XV.3.1.2.4. Inversiile paracentrice

Purtătorii de inversii paracentrice prezintă un fenotip normal și de regulă nu au descendenți cu anomalii cromosomice structurale neechilibrate. Ei nu pot avea descendenți cu anomalii cromosomice neechilibrate, deoarece prin crossing-over la nivelul buclei de inversie rezultă gameți cu cromosomi acentrici sau dicentrici. Gametul cu cromosom acentric este neviabil, deoarece cromosomul nu se poate atașa la fibrele fusului de diviziune. Segregarea cromosomului dicentric este grav perturbată, pentru că cele două centromere sunt trase spre poli diferiți ai fusului de diviziune și rămân între cei doi nuclei în momentul reapariției membranelor nucleare, în telofază.

XV.3.1.2.5. Inserții

Riscul unui purtător de inserție de a avea un copil anormal depinde de dimensiunea fragmentului inserat și de conținutul genic al acestuia.

În condițiile în care fragmentul inserat este mare, există un risc crescut de recombinare la nivelul segmentului inserat, cromosomii implicați în această anomalie adoptând o configurație de tip cvadrivalent. Totuși, produșii de concepție cu anomalii cromosomice neechilibrate sunt, de regulă, neviabili, iar riscul pentru descendenți anormali va fi de **0-5%.** În această situație, soția va prezenta un număr relativ mare de avorturi spontane.

În cazul în care inserția este mică, embrionii cu trisomie parțială sunt viabili, iar cei cu monosomie parțială sunt neviabili, fiind avortați. Într-o astfel de situație riscul teoretic al unui purtător de inserție de a avea un copil afectat este de aproximativ 33%, în timp ce riscul practic este de **10-20%.**

Inserțiile reprezintă rearanjamentele cromosomice cu cel mai mare risc de copii anormali. Astfel, riscul global în inserțiile intracromosomice este de **15%,** dar este posibil ca această cifră să reprezinte o subestimare.

Examenul cromosomic trebuie obligatoriu efectuat şi la copiii cu fenotip normal ai unui purtător de inserţie, deoarece circa jumătate au aceeaşi anomalie.

XV.3.2. RISCUL GENETIC ÎN BOLI MONOGENICE

În bolile monogenice, calcularea riscului de recurenţă este în principiu o problemă uşoară, în condiţiile în care se cunosc genotipurile persoanelor consultate. Totuşi, dacă genotipurile nu sunt cunoscute trebuie aplicate legile probabilităţii şi teorema Bayes (aproximare bayesiană).

XV.3.2.1. Calculul probabilistic în bolile monogenice

Legea adunării

Această lege se aplică când două evenimente se exclud reciproc. Legea susţine că probabilitatea de apariţie a unuia din cele 2 evenimente, indiferent care, este egală cu suma celor două probabilităţi (relaţia XV.1.).

$$p = p_1 + p_2 \qquad \textbf{relaţia XV.1.}$$

De exemplu, în cazul unui cuplu heterozigot pentru o boală recesiv autosomală, probabilitatea cuplului de a avea un copil sănătos (NN sau Na) este 3/4, fiind egală cu suma probabilităţilor de a avea un copil sănătos homozigot (1/4) respectiv heterozigot (1/2).

	N	a
N	NN	Na
a	Na	aa

$P_{NN} = 1/4;$

$$P_{CS} = P_{NN} + P_{Na} = 1/4 + 1/2 = 1/4 + 2/4 = 3/4$$

Legea multiplicării

Legea multiplicării se aplică în condiţiile în care 2 sau mai multe evenimente se produc independent unul de celălalt. Legea susţine că probabilitatea de producere concomitentă a două sau mai multe evenimente independente este egală cu produsul probabilităţilor celor două evenimente (relaţia XV.2.):

$$p = p_1 \times p_2 \qquad \textbf{relaţia XV.2.}$$

De exemplu într-o boală recesiv autosomală, probabilitatea unui cuplu sănătos, neînrudit, care provine din familii în care nu există cazuri de boală, de a avea un copil bolnav este egală cu produsul a trei probabilităţi:

- probabilitatea mamei de a fi heterozigotă, Na;
- probabilitatea tatălui de a fi heterozigot, Na;
- probabilitatea cuplului heterozigot de a avea un copil bolnav (relaţia XV.3.).

$$P_B = P_M \times P_T \times P_C = 2pq \times 2pq \times \frac{1}{4} = p^2q^2 \approx q^2$$ **relația XV.3.**

unde: P_B - probabilitatea copilului de a fi afectat, P_M - probabilitatea mamei de a fi heterozigotă, P_T - probabilitatea tatălui de a fi heterozigot, P_C - probabilitatea unui cuplu heterozigot de a avea un copil afectat, 2pq - frecvența heterozigoților în populație, q^2 - frecvența bolii în populație.

Teorema Bayes

Teorema Bayes permite calcularea probabilității apariției unui eveniment luând în considerare o serie de informații care pot modifica probabilitățile diverselor evenimente componente. În cadrul teoremei sunt luate în calcul patru categorii de probabilități:

- probabilitatea **apriorică** reprezintă probabilitatea inițială ("anterioară") a unui eveniment;
- probabilitatea **condițională** reprezintă probabilitatea modificată ("posterioară") a evenimentului luat în calcul;
- probabilitatea **conjugată** reprezintă produsul înmulțirii dintre probabilitatea apriorică și probabilitatea condițională a fiecărui eveniment considerat;
- probabilitatea **relativă** reprezintă raportul dintre probabilitatea conjugată a unui eveniment și suma tuturor probabilităților conjugate ale tuturor posibilităților

De exemplu, dacă notăm cu P(a) probabilitatea apriorică de apariție a unui eveniment, cu P(na) probabilitatea apriorică ca acel eveniment să nu apară, cu P(c) probabilitatea condițională ca un alt eveniment să fie asociat cu evenimentul luat în discuție și cu P(nc) probabilitatea condițională ca un cel de-al doilea eveniment să nu fie asociat cu evenimentul luat în discuție, atunci probabilitatea relativă de apariție a evenimentului luat în discuție, asociat cu cel de-al doilea eveniment este dată de relația XV.4.:

$$P_r = \frac{P_a \times P_c}{[P_a \times P_c] + [P_{na} \times P_{nc}]}$$ **relația XV.4.**

Un exemplu, care arată că în practică lucrurile nu sunt la fel de complicate este următorul. O femeie (III2) a cărui frate (III3) și unchi matern (II3) sunt afectați de distrofie musculară Duchenne, dorește să afle riscul de a avea un băiat bolnav (IV4) în condițiile în care are deja trei băieți sănătoși (IV1, 2, 3) (figura XV.3.).

În această situație, dacă facem abstracție de cei trei băieți sănătoși ai consultantei, riscul ei de a avea un băiat bolnav ar fi de 1/4, deoarece

probabilitatea femeii de a fi heterozigotă este de 1/2, iar probabilitatea ei de a transmite gena anormală la băieţi este de asemenea 1/2 (relaţia XV.5.).

$$P_{IV4B} = P_{III2X^N X^a} \times P_{IV4X^a Y} = \frac{1}{2} \times \frac{1}{2} = \frac{1}{4}$$ **relaţia XV.5.**

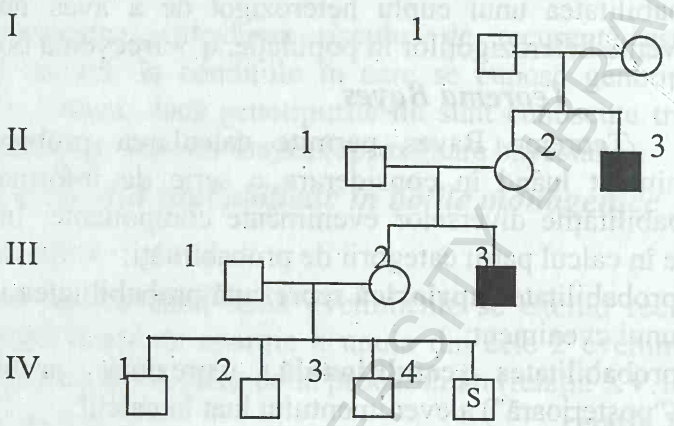


Figura XV.3. Arborele genealogic al unei familii în care există cazuri de distrofie musculară Duchenne

Aplicând teorema Bayes găsim următoarele probabilităţi:

- probabilitatea apriorică a femeii III2 de a fi heterozigotă $X^N X^a$ este de 1/2 (Pa), identică cu cea de a fi homozigotă sănătoasă $X^N X^N$ (Pna);
- ţinând cont că femeia are trei copii sănătoşi, al căror risc de a fi afectaţi a fost pentru fiecare de 1/2, probabilitatea condiţională a femeii de a fi heterozigotă (Pc) este obţinută prin înmulţirea celor trei probabilităţi, fiind de 1/8 (1/2x1/2x1/2);
- în acelaşi timp, probabilitatea condiţională ca femeia să fie nepurtătoare a genei anormale (Pnc), ţinând cont de prezenţa celor trei băieţi sănătoşi, este de 1 (1x1x1);
- probabilitatea conjugată a băiatului IV4 de a fi afectat va fi de 1/16 (1/2x1/8), în timp ce probabilitatea conjugată a celuiaşi individ de a fe neafectat este de 1/2 (1/2x1).

În aceste condiţii, probabilitatea relativă a femeii de a fi heterozigotă, respectiv nepurtătoare a genei anormale sunt date de relaţiile XV.6. şi XV.7.:

$$P_{rX^N X^a} = \frac{P_a \times P_c}{[P_a \times P_c] + [P_{na} \times P_{nc}]} = \frac{\frac{1}{2} \times \frac{1}{8}}{\left[\frac{1}{2} \times \frac{1}{8}\right] + \left[\frac{1}{2} \times 1\right]} = \frac{\frac{1}{16}}{\left[\frac{1}{16}\right] + \left[\frac{1}{2}\right]} = \frac{\frac{1}{16}}{\frac{1}{16} + \frac{8}{16}} = \frac{\frac{1}{16}}{\frac{9}{16}} = \frac{1}{9}$$

relaţia XV.6.

BCU IAŞI CENTRU UNIVERSITAR LIBRARY

$$P_{rX^NX^N} = \frac{P_{na} \times P_{nc}}{[P_a \times P_c] + [P_{na} \times P_{nc}]} = \frac{\frac{1}{2} \times 1}{\left[\frac{1}{2} \times \frac{1}{8}\right] + \left[\frac{1}{2} \times 1\right]} = \frac{\frac{1}{2}}{\left[\frac{1}{16}\right] + \left[\frac{1}{2}\right]} = \frac{\frac{1}{2}}{\frac{1}{16} + \frac{8}{16}} = \frac{\frac{1}{2}}{\frac{9}{16}} = \frac{8}{9}$$

relația XV.7.

Ținând cont de aceste probabilități relative, rezultă că riscul copilului de IV4 de a fi afectat este 1/2 x 1/9 = 1/18, mult mai mic decât cel de 1/4 obținut fără a ține cont de datele suplimentare furnizate de analiza arborelui genealogic.

În concluzie, teorema Bayes constituie o metodă de calcul a probabilităților ținînd cont de probabilitatea tuturor evenimentelor posibile. Pentru aceasta este nevoie a se ține cont de următoarele observații:

- trebuie luate în considerare toate posibilitățile relevante;
- probabilitatea apriorică a fiecărei posibilități se calculează pe baza unor informații "anterioare";
- probabilitatea condițională se bazează pe o serie de informații care fac posibilitatea inițială mai mult sau mai puțin probabilă
- pentru fiecare posibilitate probabilitatea condițională este calculată comparativ cu probabilitățile condiționale ale celorlalte evenimente, astfel încât să fie posibilă calcularea unei probabilități relative pentru fiecare eveniment luat în calcul;
- toate informațiile relevante trebuie utilizate o singură dată;

XV.3.2.2. Sfatul genetic în boli dominante

XV.3.2.2.1. Boli dominante fără manifestări variabile

Calcularea riscului de recurență al afecțiunii în boli dominante este ușor de calculat în condițiile în care boala are penetranță completă și este lipsită de expresivitate variabilă.

În aceste condiții riscul este următorul:

- doi părinți bolnavi heterozigoți (An) au un risc de 3/4 de a avea un descendent afectat

	A	n
A	AA	An
n	An	nn

$P_B = 3/4$;
$P_S = 1/4$

- un cuplu în care un părinte este bolnav heterozigot (An) iar celălalt sănătos are un risc de 1/2 de a avea un descendent afectat

	A	n
n	An	nn
n	An	nn

$P_B = 1/2$;
$P_S = 1/2$

BUASVM TIMIȘOARA UNIVERSITY LIBRARY

- doi părinţi sănătoşi (nn) au un risc 0 de a avea un descendent afectat[151]

	n	n
n	nn	nn
n	nn	nn

$P_B = 0$;
$P_S = 1$

XV.3.2.2.2. Boli dominante cu penetranţă incompletă

În numeroase boli dominante a fost observat fenomenul de penetranţă incompletă, caracterizat prin absenţa manifestărilor clinice la o parte dintre heterozigoţi. Penetranţa, notată P, reprezintă raportul dintre indivizii afectaţi de o boală dominantă şi indivizii purtători ai genei anormale (AA + An) înmulţit cu 100 (relaţia XV.8.).

$$P = \frac{B}{AA + An} \times 100 \qquad \textbf{relaţia XV.8.}$$

Pentru bolile cu penetranţă incompletă, la calcularea riscului de recurenţă al afecţiunii trebuie să se ţină cont şi de valoarea P. De exemplu, pentru otoscleroză, P are valoarea de 50%, în timp ce în cazul retinoblastomului valoarea lui P este de 80-90%. Astfel, de exemplu pentru otoscleroză, în cazul unei persoane afectate heterozigotă căsătorită cu o femeie sănătoasă, riscul de a avea un copil afectat va fi dat de produsul 1/2 x P = 1/2 x 1/2 = 1/4 (25%).

În condiţiile în care un individ sănătos are un părinte afectat de o boală dominant autosomală cu penetranţă incompletă şi doreşte să afle riscul copiilor săi de a fi afectaţi, prin aplicarea teoremei Bayes, în funcţie de nivelul penetranţei se obţin datele prezentate în tabelul XV.7.:

Pe baza datelor din tabelul de mai sus se poate observa că riscul nepotului unui individ, afectat de o boală dominant autosomală cu penetranţă incompletă, de a fi de asemenea bolnav, în condiţiile în care tatăl (mama) este clinic sănătos, **nu depăşeşte** valoarea de 0,086 ≈ 1/12.

XV.3.2.2.3. Boli dominante cu expresivitatea variabilă

O mare parte dintre maladiile dominant autosomale se caracterizează prin expresivitate variabilă, persoanele bolnave din familii diferite sau chiar din aceeaşi familie având un grad diferit de afectare. În aceste condiţii, persoanele mediu afectate îşi pun problema care este riscul descendenţilor lor de a avea o formă gravă de afectare. Acest risc poate fi uşor de calculat în condiţiile în care incidenţa în populaţie a formei severe de afectare este cunoscută. În această situaţie, se aplică următoarea formulă (relaţia XV.9.):

[151] riscul real este egal cu rata mutaţiei genei respective în populaţia generală, dar de obicei acest risc este insignifiant

BCU CLUJ UNIVERSITY LIBRARY

$$p = \frac{1}{2} \times \text{incidenta}(\%)$$ relația XV.9.

Tabelul XV.7. Probabilitatea descendenților unui individ afectat cu o boală dominant autosomală cu penetranță incompletă de a fi heterozigoți, respectiv afectați, dependent de valoarea penetranței

Penetranță	Probabilitatea copiilor de a fi heterozigoți	Probabilitatea nepoților de a fi heterozigoți	Probabilitatea nepoților de a fi bolnavi
0,1	0,474	0,237	0,024
0,2	0,444	0,222	0,044
0,3	0,412	0,206	0,062
0,4	0,375	0,188	0,075
0,5	0,333	0,167	0,083
0,6	0,286	0,143	0,086
0,7	0,231	0,116	0,080
0,8	0,167	0,084	0,066
0,9	0,091	0,046	0,041

În tabelul XV.8. sunt prezentate incidența celor mai frecvente complicații în unele boli dominant autosomale, cu expresivitate variabilă.

Tabelul XV.8. Principalele complicații ale unor boli dominant autosomale cu expresivitate variabilă

Boala	Complicația	Incidență (%)
Distrofia musculară facio-scapulo-humerală	Afectare severă la vârsta de 40 ani	20
Neuropatia senzorială și motorie ereditară tip I	dificultăți majore de mers înainte de 40 de ani	5-10
Exostoze multiple	sarcoame	3
Neurofibromatoza tip I	tumori maligne educare în școli speciale	3 10
Osteogenesis imperfecta tip I	surditate necesitatea unui scaun pe rotile	40 3
Retinoblastom	osteosarcom	6
Scleroza tuberoasă	epilepsie retard mental	60 40
Sindrom Waardenburg tip I tip II	surditate	 25 50

XV.3.2.2.4. Boli dominant autosomale cu anticipaţie

Într-o serie de afecţiuni dominant autosomale a fost evidenţiat fenomenul de anticipaţie, caracterizat prin debutul mai precoce şi existenţa unei forme de boală mai grave la descendenţii unei persoane afectate. Majoritatea acestor afecţiuni sunt determinate de mutaţii dinamice, caracterizate prin amplificarea unor repetiţii trinucleotidice în cursul meiozei indivizilor afectaţi, astfel încât descendenţii lor moştenesc un număr sporit de repetiţii.

Calcularea riscului în astfel de afecţiuni se poate realiza doar în mod empiric. De exemplu, în boala Huntington, determinată de amplificarea unei secvenţe CAG, au fost stabilite, pe baza datelor epidemiologice, următoarele corelaţii: 40 trinucleotide - vârstă de debut 56 ani; 45 trinucleotide - vârstă de debut 37 de ani; 50 trinucleotide - vârstă de debut 26 ani.

XV.3.2.3. Sfatul genetic în bolile recesiv autosomale

În general, calcularea riscului de recurenţă şi acordarea sfatului genetic într-o afecţiune cu transmitere recesiv autosomală este relativ uşor de acordat. Există o serie de situaţii particulare pe care le vom discuta în continuare.

În cazul unui cuplu de părinţi sănătoşi care au un copil bolnav, calcularea riscului este deosebit de facilă. Copilul afectat al cuplului este homozigot **aa**, iar cei doi părinţi sunt obligatoriu heterozigoţi **Na**. Astfel, riscul lor de a avea un alt copil bolnav este de **1/4** (tabelul XV.9.) iar probabilitatea cuplului de a avea un copil sănătos heterozigot **Na** este de **2/3**.

Tabelul XV.9. Modalităţi de asociere ale gameţilor de la doi heterozigoţi

	N	a
N	NN	Na
a	Na	aa

O situaţie frecvent întâlnită în cazul acordării sfatului genetic este cea în care medicul trebuie să calculeze riscul pentru o afecţiune recesiv autosomală, în cazul căsătoriei între un individ care provine dintr-o familie afectată şi o persoană provenind din populaţia generală. În această situaţie, se ia în considerare legea Hardy – Weinberg.

Condiţia obligatorie ca doi indivizi sănătoşi să aibă un copil afectat de o boală recesiv autosomală este ca ambii membri ai cuplului să fie heterozigoţi. Astfel, pentru ambii membri trebuie calculată probabilitatea de a fi heterozigoţi.

Pentru individul care provine din populația generală, probabilitatea acestuia de a fi heterozigot este de **2pq ≈ 2q**, unde **p** este frecvența genei normale în populația generală, iar **q** este frecvența genei anormale (recesivă) în populația generală.

În cazul persoanei care provine din familia în care există cazuri de boală, calcularea probabilității de a fi heterozigotă depinde de gradul de înrudire cu individul afectat (tabelul XV.10.).

Tabelul XV.10. Probabilitatea de a fi heterozigot Na a rudelor unui individ bolnav aa

Relație	Na
Părinți, copii	1
Frate - soră	2/3
Bunici, unchi, mătuși, nepoți de la copii	1/2
Nepoți de la frate sau soră	1/3
Verișori primari	1/4
Copiii verișorilor primari	1/8

Astfel, probabilitatea de a fi heterozigot este de: **1** la părinții și copii unui individ afectat, de **2/3** la frații și surorile unui individ bolnav, de **1/2** la bunicii, unchii, mătușile și nepoții de la copii unui individ bolnav, de **1/3** la nepoții de la frate sau soră, de **1/4** la verișorii primari ai unui indvid afectat și de **1/8** la copiii verișorilor primari ai unui individ bolnav.

O situație deosebită apare când un individ cu o boală recesiv autosomală dorește să afle riscul descendenților săi de a fi afectați, în condițiile în care se căsătorește cu o persoană sănătoasă neînrudită.

În acest caz, riscul copiilor va fi egal cu un sfert din frecvența în populația generală a heterozigoților Na. De exemplu, în cazul fenilcetonuriei riscul copiilor unei persoane bolnave de a fi la rândul lor afectați este de 1/200 (relația XV.10.).

$$q^2 = \frac{1}{10000} \Rightarrow q = \sqrt{\frac{1}{10000}} = \frac{1}{100}$$

$$2pq \approx 2q = 2 \times \frac{1}{100} = \frac{2}{100} = \frac{1}{50}$$

$$P_c = P_m \times P_t \times P_{cp} = \frac{1}{50} \times 1 \times \frac{1}{4} = \frac{1}{200}$$

relația XV.10.

În bolile recesiv autosomale o situație care crește riscul de recurență al bolii este cea a consanguinității. La cuplurile consanguine, membrii cuplului au unele alele identice, moștenite de la strămoșul comun, unele dintre acestea fiind mutante recesive.

De exemplu, în cazul căsătoriei între doi veri primari, care au avut un bunic afectat de o boală recesiv autosomală, riscul de recurență al bolii la descendenți este de 1/16 (figura XV.4.).

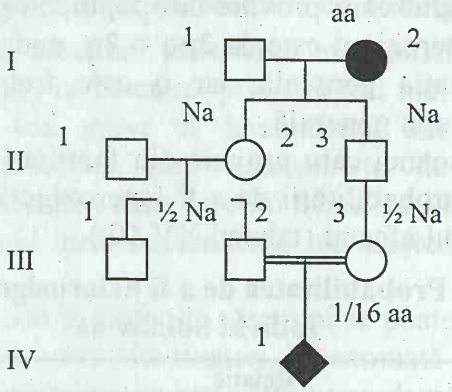


Figura XV.4. Riscul unui cuplu format din doi veri primari de a avea un copil bolnav în condiţiile în care bunica comună a fost afectată

XV.3.2.4. Sfatul genetic în boli recesive cu transmitere legată de cromosomul X

În bolile recesive cu transmitere legată de cromosomul X există două situaţii speciale legate de acordarea sfatului genetic:

- există un singur caz de boală în familie
- există mai multe cazuri de boală în familie.

În ambele situaţii calcularea riscului de recurenţă se face pe baza teoremei Bayes.

În situaţia în care există un singur caz de boală în familie, riscul de recurenţă este diferenţiat dacă boala este consecinţa unei mutaţii germinale, produsă la mama pacientului sau mama este purtătoare a genei mutante.

Calcularea probabilităţii unei femei ce are un băiat bolnav de a fi heterozigotă X^NX^a se face în raport cu rata mutaţiei, notată μ. Probabilitatea ca o femeie să fie heterozigotă (p_f) reprezintă suma a trei probabilităţi: probabilitatea ei de a moşteni gena anormală de la mama heterozigotă (p_m) probabilitatea apariţiei unei mutaţii germinale la mamă (m_m) şi probabilitatea apariţiei unei mutaţii germinale la tată (m_p) (relaţia XV.11.).

$$p_f = \left(\frac{1}{2} \times p_m\right) + m_m + m_p \qquad \textbf{relaţia XV.11.}$$

Când rata mutaţiei este identică la cele două sexe, fiind reprezentată de μ şi se presupune că rata mutaţiei nu se modifică de la o generaţia la alta, probabilitatea femeii de a fi heterozigotă este 4μ (relaţia XV.12.)

$$p_f = \left(\frac{1}{2} \times p_f\right) + \mu + \mu \Leftrightarrow p_f = \frac{p_f}{2} + 2\mu \Leftrightarrow p_f - \frac{p_f}{2} = 2\mu \Leftrightarrow \frac{p_f}{2} = 2\mu \Leftrightarrow p_f = 4\mu$$

relația XV.12.

Aplicând teorema Bayes pentru o astfel de femeie se poate stabili că probabilitatea ei de a fi heterozigotă este de 2/3, iar cea de a fi homozigotă normală de 1/3. Plecând de la aceste premise, bunica maternă și sora copilului bolnav au o probabilitate de 1/3 de a fi heterozigote, mătușa maternă și nepoata de la soră au o probabilitate de 1/6, iar verișoarele primare pe linie maternă au o probabilitate de 1/12.

O a doua situație particulară în cazul unei boli cu transmitere recesivă legată de cromosomul X este aceea în care în familie există mai multe cazuri de boală și o femeie este sigur purtătoare a mutației. În situația în care o femeie are tatăl afectat, riscul ei de a avea un copil bolnav este de 1/2, iar probabilitatea fetelor sale de a fi heterozigote este de asemenea de 1/2.

În schimb, o femeie ce are 2 frați afectați și tatăl sănătos, are în mod cert mama heterozigotă, iar probabilitatea ei de a fi de asemenea heterozigotă este de 1/2. În aceste condiții, riscul băieților ei de a fi bolnavi este de 1/4.

XV.3.3. RISCUL GENETIC ÎN BOLI MULTIFACTORIALE

În bolile multifactoriale, în determinismul afecțiunii intervin pe de o parte factori genetici, iar pe de altă parte factori de mediu. Factorii genetici implicați sunt reprezentați de mai multe perechi de gene, care au o acțiune redusă, dar aditivă.

În aceste condiții, riscul de recurență al afecțiunii se bazează pe date empirice, rezultate din studii populaționale. Astfel, pentru acordarea sfatului genetic în boli multifactoriale trebuie respectate o serie de principii generale:

- Riscul de recurență la rudele de gradul I este mai mare decât la alte persoane din familie;
- Riscul empiric reprezintă o medie a riscului pentru boala respectivă în populație, fiind posibil ca riscul real în familie să fie diferit de medie;
- Riscul de recurență al afecțiunii este crescut în următoarele situații:
  - Prezența în familie a mai mult de un caz de boală;
  - Prezența unei forme severe de boală;
  - Debutul bolii s-a produs mai precoce;
  - Există în familie persoane afectate de un anumit sex la care boala respectivă în mod normal este mai puțin frecventă;
  - Există căsătorii consanguine;

De exemplu, în cazul calculării riscului pentru un defect de tub neural (anencefalie, spina bifida, mielomeningocel) se cunoaște că incidența unei astfel de anomalii în populația caucaziană este de aproximativ 0,3%. În

B.C.U. „M. EMINESCU" IAȘI BIOLOGIE

condiţiile în care un cuplu are deja un copil cu o astfel de afecţiune, riscul său la următoarele sarcini va fi 4% şi nu 0,3%. În plus, în condiţiile în care sexul copilului afectat este feminin, iar următoarea sarcină este de asemenea cu făt de sex feminin riscul de recurenţă ajunge la 6%. Comparativ cu riscul din populaţia generală riscul din această familie se menţine ridicat până la nivel de rude de gradul II (tabelul XV.11.). Totuşi, chiar şi în aceste condiţii, riscul de recurenţă al afecţiunii poate fi redus prin suplimentarea dietei gravidei cu acid folic, care stimulează închiderea tubului neural. O situaţie similară se întâlneşte şi în cazul despicăturii labio-palatine (tabelul XV.11.)

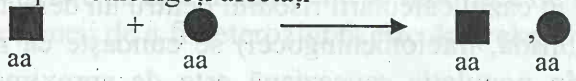
Tabelul XV.11. Riscul de recurenţă (exprimat în procente) pentru despicătura labio-palatină şi defecte de tub neural

Rude afectate	Despicătură labio-palatină	Defect de tub neural
Nici un alt caz de boală în fratrie		
• Ambii părinţi indemni	0,1	0,3
• Un părinte afectat	3	4,5
• Ambii părinţi afectaţi	34	30
Un caz de boală în fratrie		
• Ambii părinţi indemni	3	4
• Un părinte afectat	11	12
• Ambii părinţi afectaţi	40	38
Două cazuri de boală în fratrie		
• Ambii părinţi indemni	8	10
• Un părinte afectat	19	20
• Ambii părinţi afectaţi	45	43
Un caz de boală în fratrie şi unul la o rudă de gradul II		
• Ambii părinţi indemni	6	7
• Un părinte afectat	16	18
• Ambii părinţi afectaţi	43	42
Un caz de boală în fratrie şi unul la o rudă de gradul III		
• Ambii părinţi indemni	4	5,5
• Un părinte afectat	14	16
• Ambii părinţi afectaţi	44	42

XV.4. CATEGORII DE RISC GENETIC

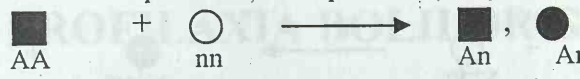
Pe baza datelor prezentate în paragrafele precedente, riscurile de recurenţă în bolile genetice pot fi clasificate în 5 categorii:

- **Risc total – 100% -** apare în următoarele situaţii:
  - Un cuplu format din doi părinţi afectaţi de o boală recesiv autosomală are toţi copii homozigoţi afectaţi



  - Unul dintre membrii cuplului este homozigot pentru o mutaţie dominant

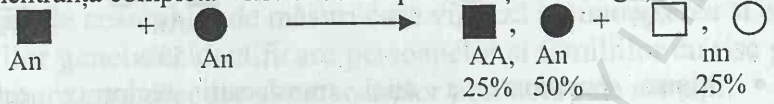
autosomală cu penetranță completă– toți copiii vor fi heterozigoți afectați



- Unul dintre membrii cuplului, de obicei soția, este purtătoare a unei translocații Robertsoniene echilibrate între doi cromosomi omologi (13 sau 21) – toți copiii vor prezenta sindrom Patau, respectiv Down

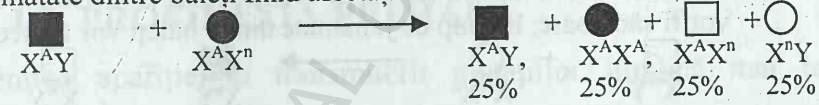
▪ **Risc foarte mare – 50-75%;**

- Ambii soți sunt heterozigoți pentru o mutație dominant autosomală cu penentranță completă – risc 75% - copii afectați homozigoți sau heterozigoți

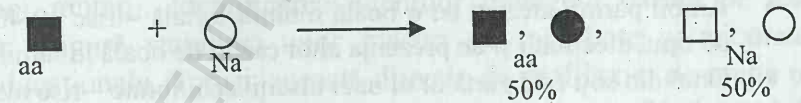


- Ambii soți sunt heterozigoți pentru o mutație dominant autosomală cu penentranță incompletă – risc cuprins în intervalul 50-75%, dependent de gradul de penetranță al mutației, boala fiind prezentă la toți descendenții homozigoți și la o parte dintre heterozigoți

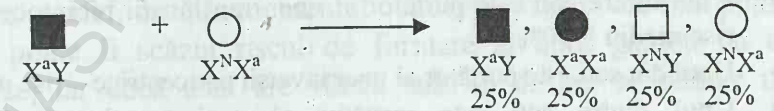
- Ambii soți afectați, soția fiind heterozigotă pentru o mutație dominantă cu transmitere legată de cromosomul X – risc 75% - toate fetele și jumătate dintre băieți fiind afectați



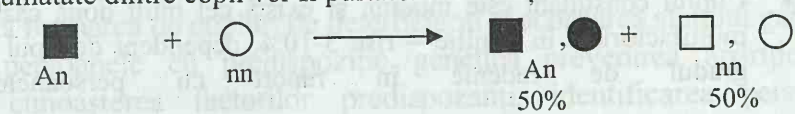
- Unul dintre soți afectat, iar celălalt heterozigot pentru o mutație recesiv autosomală – risc 50% - jumătate dintre copii vor fi homozigoții aa



- Soțul afectat și soția heterozigotă pentru o mutație cu transmitere recesivă legată de cromosomul X – risc 50% - jumătate dintre fete și jumătate dintre băieți vor fi afectați



- Unul dintre membrii cuplului este heterozigot afectat de o boală cu transmitere dominant autosomală cu penetranță completă – risc 50% - jumătate dintre copii vor fi purtători ai mutației



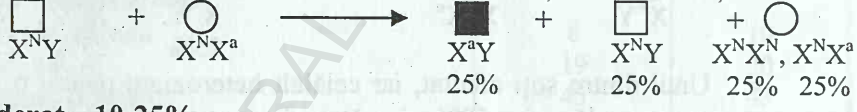
- Tatăl bolnav și mama sănătoasă în cazul unei boli cu transmitere

dominantă legată de cromosomul X – risc 50% - toate fetele vor fi afectate

- **Risc mare – 25-50%;**
  - Unul dintre membrii cuplului este afectat de o boală cu transmitere dominant autosomală cu penetranță incompletă – risc 25-50%

  - Mama purtătoare a unei translocații reciproce echilibrate între cromosomul X şi un autosom – risc 20-40% - copiii cu sindrom Klinefelter sau sindrom triplo X;
  - Ambii părinți sunt sănătoşi, dar heterozigoți pentru o mutație cu transmitere recesiv autosomală – risc 25% - copiii afectați fiind atât fete, cât şi băieți

  - Ambii părinți sunt sănătoşi, dar mama este heterozigotă pentru o mutație cu transmitere recesivă legată de cromosomul X – risc 25% - toate fetele vor fi sănătoase, în timp ce jumătate dintre băieți vor fi afectați



- **Risc moderat – 10-25%;**
  - Ambii părinți afectați de o boală multifactorială – risc 30-40%, dependent de tipul afecțiunii şi de prezența altor cazuri de boală în familie
  - Unul din soți este purtător al unei inserții echilibrate – risc mediu 10-20%
  - Unul dintre soți este afectat de o boală multifactorială, iar în familie mai există încă cel puțin două cazuri de boală – risc mediu 10-20%
- **Risc mic – 3-10%**
  - Unul dintre soți este purtător al unei translocații reciproce echilibrate – risc mediu 5-10%
  - Unul din soți este purtător al unei inversii pericentrice – risc mediu 5-10%
  - Unul dintre soți este purtător al unei translocații Robertsoniene echilibrată ce implică cromosomul 21– copiii acestui cuplu au un risc de aproximativ 10% de a avea sindrom Down
  - Cuplul consultant este indemn şi există cel mult două cazuri de boală multifactorială în familie – risc 3-10%, dependent de tipul afecțiunii şi gradul de rudenie în raport cu persoanele bolnave

XVI. PROFILAXIA BOLILOR GENETICE

Prevenirea apariției bolilor genetice constituie o prioritate a Geneticii medicale în condițiile în care afecțiunile genetice sunt cronice, de regulă invalidante și în majoritatea cazurilor nu beneficiază de un tratament specific. În plus, maladiile genetice se pot transmite și la descendenți, astfel încât boala interesează nu numai pacientul, ci și familia acestuia. Profilaxia bolilor genetice cuprinde ansamblul de măsuri care vizează recunoașterea și evitarea cauzelor bolilor genetice, identificare persoanelor și familiilor cu risc genetic crescut și diagnosticul precoce al persoanelor purtătoare de mutații.

Profilaxia bolilor genetice la nivel populațional este apanajul unei ramuri a geneticii medicale, numită **medicină comunitară**.

XVI.1. DIRECȚII DE PROFILAXIE

Prevenirea apariției bolilor genetice implică două direcții majore: prevenirea apariției și transmiterii mutațiilor patogene – **profilaxia primară** – respectiv depistarea precoce a afecțiunii la persoanele cu risc – **profilaxia secundară**.

XVI.1.1. PROFILAXIA PRIMARĂ

Prevenirea apariției și transmiterii mutațiilor implică mai multe categorii de măsuri.

Recunoașterea agenților mutageni din mediu permite împiedicarea apariției unor mutații. Identificarea agenților mutageni bazată pe teste de mutageneză, asigură stabilirea unor măsuri de securitate și adoptarea de programe educaționale. Totuși, această direcție de profilaxie, de multe ori, nu are sorți de izbândă deoarece multe mutații sunt spontane, fiind imposibil de evitat.

O direcție de profilaxie primară mai ușor fezabilă este reducerea vârstei reproductive. Astfel, dacă în momentul concepției mama are mai puțin de 35-38 de ani poate fi scăzut riscul de formare al unor gameți cu anomalii cromosomice, iar dacă tatăl are vârsta sub 45 de ani se reduce riscul de producere a unor mutații genice.

Prevenirea apariției mutațiilor la descendenți implică depistarea heterozigoților în boli recesive, evitarea căsătoriilor consanguine care favorizează formarea de cupluri de heterozigoți și acordarea sfatului genetic.

La persoanele cu predispoziție genetică prevenirea apariției bolii necesită: cunoașterea factorilor predispozanți, identificarea persoanelor

sănătoase cu risc crescut şi evitarea factorilor de mediu care transformă predispoziţia genetică în boală.

XVI.1.2. PROFILAXIA SECUNDARĂ

Măsurile de profilaxie secundară vizează depistarea precoce a bolii înainte de naştere (screening şi diagnostic prenatal) sau după naştere (screening neonatal şi presimptomatic).

Prevenirea naşterii unui copil afectat este esenţială la cuplurile cu risc genetic crescut. În acest scop se poate aplica: contracepţia, fertilizarea *in vitro* sau screening-ul (diagnosticul) prenatal.

Contracepţia este aplicabilă când riscul descendenţilor de a manifesta boala este de 100% (ambii părinţi afectaţi de o boală recesivă sau un părinte purtător al unei translocaţii Robertsoniene echilibrate între cromosomi omologi)[152]. În acest scop se poate folosi o metodă contraceptivă mecanică, hormonală sau chirurgicală (ligatura de trompe/canale deferente). Fertilizarea *in vitro* este aplicabilă în situaţiile în care doar unul dintre membrii cuplului are risc total de a transmite mutaţia şi implică fecundarea gameţilor de partenerul sănătos cu gameţi de la un donator normal.

Screeningul prenatal se aplică în I sau al II-lea trimestru de sarcină şi implică dozarea în serul matern a unor markeri biochimici, a căror valoare este anormală în sarcinile cu feţi cu anomalii congenitale (defecte de tub neural deschise, sindrom Down etc.). Diagnosticul prenatal este indicat în sarcinile în care screeningul prenatal a furnizat rezultate anormale sau la gravide care au risc crescut de a avea un copil bolnav. El se poate realiza prin tehnici noninvazive (ecografie fetală) sau manevre invazive (biopsie de vilozităţi coriale, amniocenteză, cordonocenteză) urmate de analize biochimcie, cromosomice sau moleculare. În raport cu rezultatele tehnicilor de diagnostic prenatal, cuplul parental poate lua o decizie informată legată de continuarea sau întreruperea sarcinii.

Prevenirea manifestării unei boli genetice la o persoană cu risc se face prin screening populaţional sau familial. Ea se realizează la naştere sau pe parcursul vieţii şi vizează persoanele cu genotip anormal.

Screeningul neonatal este aplicabil în boli monogenice frecvente, nemanifeste la naştere, care au evoluţie invalidantă şi beneficiază de un tratament adecvat ce împiedică apariţia complicaţiilor. În majoritatea ţărilor, screeningul neonatal vizează depistarea fenilcetonuriei şi al hipotiroidiei congenitale.

[152] Vezi capitolul **Sfatul genetic**

În unele boli, precum talasemie sau fibroza chistică[153], este importantă depistarea prin screening a heterozigoților, deoarece la sarcinile cuplurilor heterozigote s-ar putea aplica țintit o metodă moleculară de detecție a afecțiunii.

Un alt tip de screening este cel familial care se aplică pentru detecția presimptomatică a persoanelor cu genotip anormal, în boli cu debut tardiv și care pot beneficia de un tratament corect. De exemplu, un astfel de screening se poate aplica în hipercoelsterolemia familială[154].

XVI.2. SCREENING-UL POPULAȚIONAL AL BOLILOR GENETICE

Studiul frecvenței populaționale a bolilor genetice și implicațiile majore ale acestor afecțiuni asupra pacienților, familiilor lor și societății au impus programe speciale de prevenție. Una din principalele metode de profilaxie este screening-ul genetic, definit ca *metoda de identificare, la nivelul unei populații, a persoanelor cu genotipuri asociate unei boli sau predispoziții la boală sau care pot duce la apariția unei boli la descendenți.*

Scopul screening-ului este de recunoaștere precoce a afecțiunii, astfel încât intervenția medicală să prevină sau să corecteze procesul patogenic (screening-ul neonatal pentru erori înnăscute de metabolism) sau ca individul să poată lua o decizie conștientă și informată asupra reproducerii sale (screeningul prenatal și cel al heterozigoților pentru mutații recesive).

Adoptarea unui anumit tip de screening este dependentă de realizarea mai multor criterii. Boala trebuie să fie gravă și relativ frecventă, astfel încât beneficiile programului de screening să justifice costurile. De asemenea, este important ca evoluția naturală a bolii să fie cunoscută și să existe un tratament eficient și acceptabil (sau, în unele boli genetice, să existe posibilitatea diagnosticului prenatal).

Testul trebuie să fie acceptabil de către membrii populației, ușor de efectuat și eficient. Caracteristicile generale ale unui test screening sunt prezentate în tabelul XVI.1.

Este esențial ca testul screening să furnizeze rezultate cât mai corecte, mai precis să asigure diferențierea indivizilor care au o anumită boală de cei sănătoși. Această particularitate este cuantificată prin două componente: sensibilitatea și specificitatea (tabelul XVI.2). *Sensibilitatea* este capacitatea de a identifica indivizii cu o boală genetică, exprimată prin proporția bolnavilor cu test pozitiv (rezultate pozitive reale). *Specificitatea* este

[153] Vezi capitolul **Bolile monogenice**
[154] Vezi capitolul **Bolile monogenice**

capacitatea de a identifica indivizii care nu au boala genetică, exprimată prin proporţia indivizilor neafectaţi, cu test negativ (rezultate negative reale).

Tabelul XVI.1. Criterii pentru un program de screening neonatal

Boala	incidenţă crescută în populaţia ţintă consecinţe importante asupra sănătăţii tratabilă sau cu posibilităţi de prevenire
Testul	neinvaziv şi uşor de realizat precis ieftin
Programul	disponibilitate largă şi echitabilă participare voluntară acceptabil pentru populaţia ţintă informaţii complete şi sfat genetic

Tabelul XVI.2 Caracteristicile unui test screening

	Fenotip		Caracteristicile testului
Screening	*Anormal*	*Normal*	**Sensibilitate** – a/(a+c)
Pozitiv	Real pozitiv – a	Fals pozitiv – b	**Specificitate** – d/(b+d)
Negativ	Fals negativ - c	Real negativ - d	**Valoare predictivă pozitivă** – a/(a+b)

Un aspect esenţial pentru implementarea unui test screening este existenţa unei strategii de comunicare eficientă a rezultatelor, precum şi a posibilităţilor de diagnostic şi tratament a afecţiunii investigate.

Sensibilitatea şi specificitatea sunt măsurate prin compararea rezultatelor screening-ului cu cele ale unui test diagnostic definitiv. Testele screening nu au niciodată o sensibilitate sau specificitate de 100%, deoarece valorile testului în populaţia afectată se suprapun parţial peste cele ale populaţiei normale. De aceea este necesară stabilirea unei valori limită de separare a celor două populaţii, prin luarea în consideraţie atât a implicaţiilor non-detecţiei (creşterea frecvenţei rezultatelor fals negative) cât şi pe cele ale specificităţii reduse (creşterea frecvenţei rezultatelor fals pozitive);

Orice test screening se caracterizează printr-o valoare predictivă, care indică acurateţea metodei şi este cuantificată prin proporţia de persoane cu rezultate pozitive care au într-adevăr afecţiunea investigată.

XVI.2.1. SCREENING-UL PRENATAL

Naşterea unui copil reprezintă un eveniment important în viaţa oricărei familii şi reprezintă încheierea unei lungi perioade de incertitudine generată de temerea că viitorul copil va fi anormal. Pentru a micşora anxietatea părinţilor şi a preveni naşterea unui copil anormal este necesară implementarea unor metode de **screening** şi **diagnostic prenatal.**

Principalele **proceduri de screening prenatal** sunt *screeningul biochimic* şi cel *ecografic* care permit identificarea unui număr crescut de sarcini cu risc genetic sau malformativ crescut.

XVI.2.1.1. Screeningul biochimic

Screeningul biochimic se bazează pe dozarea unor markeri serici materni a căror valori anormale sunt asociate cu un risc crescut de anomalii congenitale sau boli cromosomice. Astfel, dozarea α-fetoproteinei în serul matern este folosită pentru *screening-ul prenatal al unor anomalii congenitale*, iar aplicarea testului triplu (determinarea α-fetoproteinei, a gonadotropinei corionice umane şi a estriolului neconjugat) permite depistarea *unor boli cromosomice.*

Orice defect fetal care permite trecerea α-fetoproteinei[155] în lichidul amniotic (tabelul XVI.3.) determină creşterea nivelului α-fetoproteinei în lichidul amniotic şi în serul matern.

Tabelul XVI.3. Anomalii congenitale care determină creşteri ale nivelelor α-fetoproteinei în lichidul amniotic şi serul matern

Defectele deschise ale tubului neural - spina bifida
Decesul spontan intrauterin
Omfalocelul şi gastroschizisul
Atrezia esofagiană sau intestinală
Sindromul nefrotic congenital
Hipoplazia dermică focală sau alte defecte cutanate
Sindromul Meckel

Evidenţierea unor valori crescute ale α-fetoproteinei în serul matern în săptămâna 16 de sarcină (şi exprimarea valorilor în multipli ai medianei pentru vârsta gestaţională, cu corecţii pentru apartenenţa etnică, obezitate, diabet, tipul de sarcină – unică sau multiplă) este corelată cu prezenţa unor defecte deschise de tub neural. Procedura asigură depistarea doar a 80-95% din cazuri, deoarece curbele de distribuţie ale acestora se suprapun parţial în sarcinile normale şi patologice (figura XVI.1.). Confirmarea diagnosticului impune ecografia fetală şi determinarea în lichidul amniotic a α-fetoproteinei şi a acetilcolinesterazei.

Screeningul biochimic al bolilor cromosomice şi, în special, al sindromului Down se poate face în trimestrul I sau trimestrul II de sarcină (tabelul XVI.4).

Screeningul efectuat în primul trimestru se aplică în săptămâna 10 de sarcină şi se bazează pe evidenţierea unei scăderi a *proteinei plasmatice A asociată cu sarcina (PAPP-A)* şi a unei creşteri a fracţiei β a *gonadotrofinei corionice umane* (hCG) în serul matern. Sensibilitatea metodei este de 60%, dar poate fi crescută prin coroborare cu examenul ecografic, când acesta

[155] **α-fetoproteina** este echivalentul fetal al albuminei de la adult, fiind principala proteină din sânge

evidenţiază o hipoecogenitate crescută în regiunea cefei (pliu nucal > 3 mm). Astfel, pot fi detectate până la 75% din cazurile de sindrom Down. Avantajul major al metodei este aplicarea precoce, iar în cazul confirmării suspiciunii de trisomie 21 se poate întrerupe sarcina în timp optim.

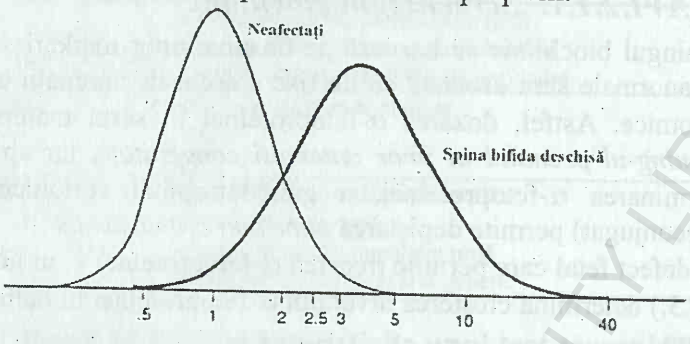


Figura XVI.1. Distribuţia logaritmică a nivelelor α-FP serice materne în săptămâna 16 de gestaţie

Screeningul efectuat în trimestrul II de sarcină (săptămânile 16-18) se bazează pe determinarea în serul matern a α-fetoproteinei în corelaţie cu o serie de dozări hormonale. **Testul triplu** constă în dozarea în serul matern a *α-fetoproteinei, estriolului neconjugat şi a gonadotrofinei corionice umane* (hCG). Când primele două au valori scăzute, iar hCG este crescut, triplul test este considerat pozitiv pentru trisomia 21, sensibilitatea metodei fiind de 60%. Prin dozarea şi a inhibinei A (testul cvadruplu) sensibilitatea screeningului este crescută la 75%. În condiţiile în care examenul ecografic evidenţiază o scurtare a femurului sau anomalii ale osului nazal, probabilitatea ca sarcina să fie cu făt cu trisomie 21 creşte la 90%.

Tabelul XVI.4. Rezultatele triplului test în câteva boli cromosomice fetale

Boala	α-fetoproteina	Estradiolul	hCG
Sindromul Down	↓	↓	↑
Trisomia 18	↓	↓	↓
Sindromul Turner	↓	↓	↑

Aplicarea screeningului biochimic prenatal ridică probleme etice, fiind necesară explicarea avantajelor şi posibilităţilor de eroare, astfel încât cuplul parental să conştientizeze posibilitatea unor teste fals-pozitive (5%) sau fals-negative (10-20%). Indiferent de tipul de screening biochimic, rezultatul trebuie confirmat sau infirmat printr-o procedură de diagnostic prenatal.

XVI.2.1.2. Screeningul ecografic

Ecografia fetală este o metodă de screening valoroasă pentru că nu afectează nici fătul şi nici mama. Ea se bazează pe plasarea pe abdomenul

mamei a unui transductor care emite ultrasunete. Aceste unde sunt reflectate de țesuturile fetale şi sunt vizualizate în timp real pe un monitor.

Ecografia este un examen de rutină pentru toate femeile însărcinate şi permite aprecierea unor aspecte generale (număr de embrioni, dimensiuni şi ritm de creştere, aspectul placentei, cordonului ombilical etc.).

Examenul de rutină nu poate detecta unele anomalii fetale, astfel încât în sarcinile cu risc este necesară realizarea unei ecografii mai complexe ce permite vizualizarea morfologiei fetale. O astfel de metodă permite identificarea *defectelor de tub neural* (anencefalia sau spina bifida) a căror prezență este sugerată de creşterea α-fetoproteinei în serul matern. De asemenea, se poate efectua o ecocardiografie fetală cu sistem Doppler, pentru diagnosticul *malformațiilor cardiace*. Ecografia fetală permite şi detecția *anomaliilor scheletice* sau *stabilirea sexului fătului* (aspect important în sarcinile cu risc pentru boli legate de cromosomul X) (tabelul XVI.5.).

Tabelul XVI.5. Anomalii diagnosticate ecografic în sarcină

Complexe simptomatice	Abdomen / Pelvis
Hidropsul fetal	Atrezia gastro-intestinală
Oligohidramniosul	Gastroschizisul
Polihidramniosul	Omfalocelul
Întârzierea în dezvoltarea intrauterină	Agenezia renală
Sistem nervos central	Rinichiul polichistic
Anencefalia	Hidronefroza
Encefalocelul	**Anomalii craniofaciale**
Holoprozencefalia	Despicătura labio-palatină
Hidrocefalia	**Anomalii scheletice**
Torace	Amputații ale membrelor
Malformații congenitale cardiace	Osteocondrodisplazii
Hernia diafragmatică	*Osteogenesis imperfecta*

Unele anomalii congenitale depistate ecografic, sunt caracteristice bolilor cromosomice, impunând amniocenteza şi cariotipul fetal (tabelul XVI.6.).

Tabelul XVI.6. Aspecte ecografice concordante cu o anomalie cromosomică

Modificarea ecografică observată	Anomalia cromosomică sugerată
Edem la nivelul cefei (pliu nucal >3 mm)	Trisomia 21, monosomia X (sindromul Turner)
Defecte cardiovasculare	Trisomiile 13, 18, 21
Pumni flectați	Trisomia 18
Higroma chistică sau hidrops fetal	Trisomiile 13, 18, 21 şi monosomia X
Atrezia duodenală	Trisomia 21
Omfalocelul	Trisomiile 13 şi 18
Călcâiul proeminent ("în piolet")	Trisomia 18

XVI.2.2. SCREENING-UL NEONATAL

Screening-ul neonatal are drept scop depistarea nou-născuților cu anumite boli genetice, nemanifeste la naştere şi a căror evoluție poate fi oprită sau controlată prin acțiuni medicale. Există multe boli care se pretează pentru screening-ul neonatal, dar particularitățile epidemiologice ale populațiilor din diferite regiuni ale globului fac ca programele de screening din diferite țări să aibă ținte distincte. De exemplu în Europa, screening-ul neonatal este aplicat pentru afecțiuni, frecvente în populația caucaziană: fenilcetonurie, hipotiroidie congenitală, mucoviscidoză şi galactozemie (tabelul XVI.7.).

Tabelul XVI.7. Caracteristici ale unor programe de screening neonatal

Boală	Transmitere	Prevalența	Test	Cost per pacient	Tratament
Fenilcetonuria	RA	1/10.000	Guthrie	1,25$	Dietă cu restricție la fenilalanină
Hipotiroidismul congenital	Sporadică	1/4.000	Măsurarea T4 sau TSH	1,50$	Substituție hormonală
Galactozemia	RA	1/50.000	Testul transferazei	1,00$	Dietă cu restricție la galactoză
Fibroză chistică	RA	1/2.500	RIA pentru tripsină	?	Fizioterapie şi profilaxie cu antibiotice

XVI.2.2.1. Screeningul neonatal al fenilcetonuriei

Fenilcetonuria, afecțiune determinată de deficitul de fenilalanin-hidroxilază, este transmisă recesiv autosomal şi are o frecvență de 1/5.000 – 1/16.000 nou-născuți[156].

Boala se manifestă printr-o encefalopatie progresivă, evidentă după primul an de viață sub forma unui retard mintal sever la 95% dintre copiii afectați netratați de la naştere. În forma clasică de boală, nivelul rezidual al activității fenilalanin hidroxilazei este sub 1%, iar fenilalanina serică atinge niveluri de peste 20 mg/dl (1,2 mmol/l).

Screening-ul nou-născuților pentru fenilcetonurie se poate realiza prin testul Guthrie (efectuat la 3-4 zile după naştere, copiii primind diete cu conținut proteic normal) sau prin metoda spectrofotometrică. Testul Guthrie se bazează pe inhibiția creşterii coloniilor de *bacilus subtilis* de către fenilalanina din sânge, având o sensibilitate de 90% şi o specificitate de aproape 100%. Metoda spectrofotometrică are o specificitate şi sensibilitate de aproape 100%, fiind pretabil şi la automatizare, astfel încât această metodă tinde să înlocuiască testul Guthrie.

[156] Vezi capitolul **Bolile monogenice**

XVI.2.2.2. Screeningul neonatal al hipotiroidiei

Deficitul de hormoni tiroidieni are consecințe grave asupra dezvoltării intelectuale. Screening-ul neonatal este adecvat, deoarece boala este frecventă (1/4.000 de nou-născuți) iar tratamentul de substituție cu hormoni tiroidieni (tiroxină), este eficient în prevenirea tulburărilor de dezvoltare intelectuală, asociate tabloului clasic de "*cretinism guşogen*". Cauzele cele mai frecvente ale hipotiroidiei congenitale sunt absența tiroidei şi deficite funcționale ale glandei, în ambele situații nefiind implicați factori genetici. Rareori, deficitul tiroidian este generat de erori ale metabolismului hormonilor tiroidieni, care se transmit recesiv autosomal. Screening-ul se bazează pe dozarea în sânge a T4 sau TSH.

XVI.2.2.3. Screeningul neonatal al galactozemiei

Galactozemia este o boală rară (1:50.000 nou-născuți) dar cu consecințe grave asupra individului[157]. Diagnosticul precoce al galactozemiei şi aplicarea unei diete adecvate pot preveni moartea sau complicațiile pe termen lung (retardul mintal, ciroza hepatică sau cataracta) fapt care justifică încadrarea acestei afecțiuni în programele de screening. Metoda de screening se bazează pe determinarea activității galactozo-1-fosfat uridil transferazei într-o picătură uscată de sânge, recoltat prin puncție capilară.

XVI.2.2.4. Screeningul neonatal al mucoviscidozei

Mucoviscidoza este una dintre cele mai frecvente boli în populația europeană (1:2.500 nou-născuți) şi are consecințe grave asupra individului, datorită afectării cronice pulmonare, pancreatice, a diabetului şi sterilității prezente la unii pacienți de sex masculin[158]. Deşi nu există un tratament propriu-zis, rațiunea screening-ului neonatal este legată de utilizarea precoce a metodelor de fizioterapie şi antibioticoterapie, care permit îmbunătățirea prognosticului pe termen lung.

Metoda utilizată pentru screening-ul neonatal se bazează pe detectarea imunologică a unor niveluri sanguine crescute de tripsină, consecință a blocării canalelor pancreatice *in utero*.

Deşi până în prezent au fost identificate peste 700 de mutații diferite ale genei CFTR, care determină mucoviscidoza, frecvența mare a mutației ΔF508, întâlnită la până la 70% dintre bolnavi, a permis introducerea unor teste moleculare de screening neonatal şi chiar a screening-ului

[157] Vezi capitolul **Bolile monogenice**
[158] Vezi capitolul **Bolile monogenice**

populațional pentru depistarea heterozigoților, aceştia având în unele regiuni o pondere de 1 la 22 indivizi.

XVI.2.3. SCREENINGUL PURTĂTORILOR DE MUTAȚII

Termenul de *purtător* se referă la un individ care posedă în stare heterozigotă o genă mutantă implicată în producerea unei boli ereditare, dar care este sănătos la momentul studiului. Acest termen este valabil în boli recesive autosomale (heterozigoți de ambele sexe), boli recesive legate de cromosomul X (fete purtătoare ale mutației) sau în boli dominant autosomale (cu penetranță incompletă sau manifestări clinice tardive).

În astfel de situații, este importantă identificarea indivizilor sănătoşi care au risc crescut de a transmite o boală genetică descendenților lor. Recunoaşterea unui anumit mod de transmitere a unei boli genetice, pe baza examenului clinic, permite uneori estimarea prezenței genei mutante. În alte situații sunt folosite teste de laborator: biochimice, anatomo-patologice sau moleculare (detecția directă sau indirectă a mutației) pentru o predicție cât mai exactă a genotipului şi riscului genetic cu care se confruntă individul.

XVI.2.3.1. Depistarea heterozigoților pentru mutații recesive

În **bolile recesive autosomale** există cel mai mare număr de purtători sănătoşi de mutații. Orice persoană din populație este purtătoarea a cel puțin unei mutații recesive asociată unei boli grave şi a mai multor mutații recesive asociate cu anomalii letale. Identificarea purtătorilor sănătoşi de mutații autosomale recesive, în special în familiile bolnavilor, poate fi utilă în cazul *bolilor relativ comune*, în care frecvența mare a heterozigoților în populație (tabelul XVI.8.) face ca riscul genetic să fie uşor crescut, chiar dacă consanguinitatea este redusă.

De exemplu, pentru fenilcetonurie, boală cu o incidență de 1:10.000 de indivizi, riscul fratelui unui individ afectat de a avea la rândul său un copil afectat este de aproximativ 1:300 (dacă partenerul nu este consanguin). Dacă fratele este purtător de mutație riscul creşte la 1:200, iar excluderea acestei posibilități face ca riscul să fie aproape nul.

Pe de altă parte, screening-ul pentru identificarea heterozigoților pentru mutații recesive rare, deşi uneori posibil, este de evitat, deoarece nu există beneficii evidente (riscul genetic este redus dacă se evită căsătoriile consanguine) şi are un efect psihologic negativ.

Bolile recesive legate de cromosomul X reprezintă afecțiunile în care programele de screening pentru depistarea heterozigoților aduc cele mai multe beneficii, deoarece heterozigotele sunt sănătoase, apte să se reproducă şi au un risc de 50% de a avea băieți afectați, indiferent de partenerul ales.

Depistarea femeilor heterozigote este utilă în boli frecvente şi cu consecinţe grave, cum sunt distrofiile musculare legate de X şi hemofiliile.

Tabelul XVI.8. Boli recesive autosomale în care se poate aplica screeningul heterozigoţilor

Boala	Testul de screening pentru purtători
Deficitul de alfa1-antitripsină	Dozarea electroforetică a alfa1-antitripsinei; teste ADN.
Hiperplazia congenitală de suprarenală	Teste ADN
Fibroza chistică	Teste ADN
Galactozemia	Dozarea galactoz-1-fosfat uridil transferazei eritrocitare; teste ADN.
Mucopolizaharidoza tip I (Hurler)	Dozarea alfa-iduronidazei în leucocite; teste ADN.
Fenilcetonuria	Test de încărcare cu fenilalanină; raportul fenilalanină/ tirozină în ser; teste ADN.
Deficitul de pseudocolinesterază	Activitatea pseudocolinesterazei serice
Boala Tay-Sachs	Dozarea hexozaminidazei A în leucocite; teste ADN.
Talasemii, alte hemoglobinopatii	Morfologia eritrocitelor; electroforeza hemoglobinei; teste ADN.

Modalităţile de depistare a heterozigoţilor cu mutaţii recesive constau în evidenţierea unor manifestări clinice minore, decelarea de modificări histopatologice sau fiziopatologice, evidenţierea de defecte biochimice, detecţia prezenţei mutaţiei prin analiza ADN-ului.

XVI.2.3.1.1. Evidenţierea unor manifestări clinice minore

În unele boli recesive (bolile pielii, retinei etc) heterozigoţii pot avea manifestări clinice minore, în special în bolile transmise legat de cromosomul X (tabelul XVI.9.) datorită inactivării întâmplătoare a cromosomului X. De exemplu, femeile heterozigote pentru albinismul ocular transmis recesiv legat de X, pot prezenta o pigmentare retiniană în mozaic. Majoritatea bolilor recesive autosomale sau legate de X nu au însă nici o manifestare la heterozigoţi, aspectele întâlnite suprapunându-se peste variaţiile întâlnite în populaţia generală.

XVI.2.3.1.2. Evidenţierea de modificări histo- sau fiziopatologice

Examenul microscopic al ţesutului muscular, prelevat prin biopsie, poate releva prezenţa unor modificări musculare subclinice la purtătoarele mutaţiei pentru distrofia musculară Duchenne.

Examenul frotiului de sânge permite identificarea purtătorilor de mutaţii pentru hemoglobinopatii (sicklemie, talasemii, etc.).

XVI.2.3.1.3. Evidenţierea unor modificări biochimice

Este metoda cea mai importantă de evidenţiere a heterozigoţilor pentru afecţiuni recesive autosomale sau gonosomale.

Tabelul XVI.9. Modificări clinice şi biochimice minore la heterozigote în afecţiuni transmise recesiv legat de cromosomul X

Anomalii clinice	
Albinismul ocular	Aspect în mozaic al pigmentării retiniene
Retinopatie pigmentară	Pigmentare retiniană în mozaic, Electroretinogramă anormală
Sindromul Lowe	Hematurie microscopică
Sindromul Alport	Modificări cutanate
Boala Fabry	Opacităţi corneene
Anomalii biochimice	
Hemofilia A	Reducerea activităţii factorului VIII al coagulării
Hemofilia B	Reducerea nivelurilor factorului IX al coagulării
Distrofia Duchenne	Creşterea activităţii creatin kinazei serice
Deficitul de G6PDH	Reducerea activităţii G6PD eritrocitare
Sindromul Lowe	Aminoacidurie
Mucopolizaharidoza tip II (Hunter)	Dozare enzimatică în foliculii piloşi şi ser
Boala Fabry	Reducerea activităţii α-galactozidazei în foliculii piloşi

În unele situaţii modificarea biochimică este reprezentată de produsul primar al genei. De exemplu, heterozigoţii pentru gena mutantă din boala Tay-Sachs au un nivel al activităţii enzimatice intermediar între nivelele întâlnite la persoanele sănătoase şi cele bolnave.

În alte boli monogenice anomalia biochimică utilizată în depistarea heterozigoţilor este efectul secundar sau terţiar al acţiunii produsului genic. De exemplu, în distrofia musculară Duchenne există o creştere a permeabilităţii membranei musculare, cu eliberare crescută de enzime musculare în sânge. Creşterea nivelurilor creatin kinazei serice (CK) confirmă diagnosticul la bolnavi. Femeile heterozigote au activitatea CK în ser crescută în comparaţie cu restul populaţiei feminine. Există însă o suprapunere parţială a nivelelor întâlnite la heterozigotele obligatorii cu cele ale femeilor normale nepurtătoare, ceea ce face ca o activitate crescută a CK serice să nu semnifice întotdeauna starea de purtătoare. În plus, inactivarea întâmplătoare a cromosomului X la heterozigote poate face ca modificarea biochimică să fie discretă sau absentă, complicând depistarea heterozigotelor.

XVI.2.3.1.4. Detecţia mutaţiei la nivel de ADN

Identificarea mutaţiei poate fi realizată prin metode directe sau indirecte.

Secvenţierea ADN permite identificarea mutaţiilor genice din multe boli genetice. Aplicarea metodei nu este întotdeauna posibilă, datorită fenomenului de eterogenitate genetică. De exemplu, în mucoviscidoză mutaţia cea mai frecventă este ΔF508 (70%) dar uneori statusul de purtător este greu de determinat, deoarece există peste 700 de mutaţii.

Principala metodă de detecție indirectă a unei mutații o reprezintă studiul înlănțuirii genice dintre locusul morbid şi un marker ADN polimorf.

XVI.2.3.2. Diagnosticul presimptomatic în boli dominante

În bolile dominante aproape orice heterozigot este afectat şi de aceea, termenul de purtător este rezervat indivizilor cu semne minore de boală sau heterozigoților în maladii cu manifestare clinică tardivă (tabelul XVI.10.).

Tabelul XVI.10. Exemple de boli dominant autosomale cu debut tardiv şi/sau forme fruste

Boala	Testul de diagnostic presimptomatic
Neurofibromatoza tip I	Pete *"café au lait"*; noduli Lisch; teste ADN.
Boala Von Hippel-Lindau	Leziuni retiniene
Distrofia miotonică	Hipotonie musculară; opacități cristaliene; electromiografie; teste ADN.
Distrofia facio-scapulo-humerală	Uşoară astenie musculară; teste ADN.
Boala polichistică renală a adultului autosomal dominant (ADPKD)	Ecografie renală; teste ADN.
Polipoza adenomatoasă familială	Colonoscopie; teste ADN.
Sferocitoza ereditară	Morfologia eritrocitului; fragilitate osmotică; electroforeza membranelor eritrocitare.
Hipercolesterolemia familială	Dozarea LDL şi colesterolului; teste ADN.
Porfirii	Dozări enzimatice specifice

O parte din afecțiunile dominant autosomal care au forme fruste sau debutează la vârste avansate pot fi diagnosticate înaintea apariției simptomelor prin examen clinic, examene paraclinice, teste biochimice sau detecția mutației la nivelul ADN. Diagnosticul presimptomatic poate fi util pentru aplicarea unor măsuri terapeutice precoce şi este esențial pentru ca persoanele afectate să poată lua decizii informate în ceea ce priveşte reproducerea.

XVI.2.3.2.1. Examinarea clinică

Examenul clinic poate fi util pentru diagnosticul presimptomatic în unele boli dominante. De exemplu, în neurofibromatoza de tip 1 (NF1), persoanele care au moştenit gena mutantă prezintă o serie de semne caracteristice: neurofibroame cutanate, pete cutanate *"café au lait"*, noduli Lisch la nivelul irisului. De aceea, este indicată examinarea clinică a rudelor sănătoase ale indivizilor cu NF1 pentru a vedea dacă ele prezintă asemenea semne, care ar confirma existența afectării.

XVI.2.3.2.2. Investigațiile paraclinice

Demonstrarea interesării organice în afecțiuni transmise dominant autosomal poate fi utilizată ca o modalitate de diagnostic presimptomatic.

De exemplu, în distrofia miotonică Steinert, afecțiune musculară dominantă, în care bolnavii au o incapacitate de relaxare normală, electromiograma permite depistarea purtătorilor de genă mutantă, prin

evidenţierea unor descărcări spontane care apar la inserţia electrodului în muşchi, descărcări ce sunt absente la persoanele normale. De asemenea, bolnavii au un risc crescut pentru cataracta precoce, care poate fi detectată prin examinarea cu lampa cu fantă, care evidenţiază opacităţi refractile. Prezenţa unui asemenea tip de cataractă la o persoană asimptomatică, dar cu risc pentru distrofia miotonică va confirma prezenţei genei mutante.

XVI.2.3.2.3. Teste biochimice

Evidenţierea modificării calitative sau cantitative a produsului primar al genei mutante sau identificarea efectelor metabolice secundare sunt metode eficiente şi putin costisitoare, folosite pentru diagnosticul multor boli dominante. Un exemplu este dozarea colesterolului la persoanele cu risc de hipercolesterolemie familială, respectiv dozarea porfirinelor urinare sau a unor enzime specifice în diverse porfirii dominante.

XVI.2.3.2.4. Analize de înlănţuire genică

În unele boli dominante gena morbidă se transmite înlănţuit cu genele unor markeri biochimici sau markeri ADN polimorfi. Astfel de teste au aplicabilitate în bolile dominant autosomal, la care gena a fost localizată, dar nu a fost încă clonată. În alte cazuri, precum boala Huntington, clonarea genei morbide a dus la renunţarea la studiile de înlănţuire.

XVI.3. DIAGNOSTICUL PRENATAL

Identificarea prin anamneză familială sau screening prenatal a unei sarcini cu risc genetic sau malformativ crescut impune utilizarea unei metode de diagnostic prenatal, adecvată anomaliei în cauză (tabelul XVI.11.).

Tabelul XVI.11. Tehnici utilizate pentru diagnosticul prenatal

Tehnica	Vârsta sarcinii	Indicaţii (exemple)
Diagnosticul preimplantator	2	Trisomii cromosomice (13, 18, 21) Boli monogenice diagnosticate prin PCR: sindrom Marfan, fibroză chistică, sindrom X-fragil
Biopsia vilozităţilor corionice	8-10	Boli cromosomice
Amniocenteza	12-18	Anomalii cromosomice (cultură amniocite şi examen cromosomic clasic sau tehnica FISH fără cultură) Boli monogenice (distrofia musculară Duchenne, *osteogenesis imperfecta*; sicklemia;) - tehnica PCR; Boli moleculare prin deficite enzimatice (boală Hurler) – dozarea enzimei/ produsului de metabolism
Cordonocenteza	20-40	Boli cromosomice Boli monogenice cu alele mutante sau proteine anormale

BCU IAŞI / FONDUL CENTRAL UNIVERSITAR

Defectele structurale (malformații) sau bolile monogenice care prezintă anomalii structurale caracteristice pot fi diagnosticate prin metode neinvazive, precum ecografia de nivel II (direcționată pe organul-țintă).

În schimb, bolile care necesită efectuarea cariotipului (anomaliile cromosomice) a unor analize biochimice (erorile de metabolism) sau moleculare impun prelevarea de țesuturi fetale prin biopsie de vilozități corionice, amniocenteză sau cordonocenteză, metodele respective prezentând însă un anumit risc de declanşare a unui avort spontan.

Diagnosticul prenatal reprezintă o opțiune pentru viitorii părinți, aceştia fiind singurii în măsură să decidă asupra efectuării testelor şi consecințelor asupra sarcinii după aflarea rezultatelor.

XVI.3.1. BIOPSIA VILOZITĂȚILOR CORIONICE

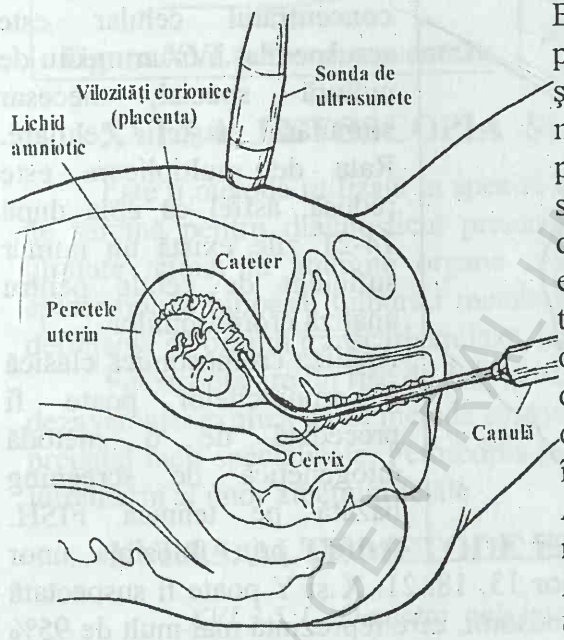


Figura XVI.2. Biopsia vilozităților corionice

Biopsia corionului (placentei primitive), structură derivată, la fel ca şi embrionul, din blastocist, este o metodă ce permite diagnosticul prenatal în primul trimestru de sarcină, de regulă la 8-10 săptămâni de gestație. Ea este făcută sub ghidaj ecografic, transabdominal sau transcervical (figura XVI.2.). Probele obținute conțin atât celule fetale derivate din trofoblast, cât şi celule din decidua maternă, care trebuie îndepărtate înainte de analiză.

Analiza cromosomilor poate fi realizată direct sau după cultură. Analiza directă permite un diagnostic provizoriu în 24-36 de ore. Țesutul recoltat poate fi folosit şi pentru diagnosticul unor boli monogenice prin analize biochimice sau ADN. Avantajul metodei este stabilirea diagnosticului în primul trimestru de sarcină. Totuşi, în 1-3% din cazuri poate fi decelat un mozaic cromosomic, care poate fi rezultatul: contaminării celulelor fetale cu celule materne sau a unor artefacte tehnice.

Detectarea unui mozaic cromosomic impune monitorizarea sarcinii şi repetarea cariotipului după recoltarea de celule fetale prin amniocenteză sau cordonocenteză.

Riscurile metodei sunt: apariţia de anomalii ale membrelor (în proceduri precoce) avortul spontan, hemoragii gestaţionale sau infecţii embrionare (ultimele riscuri pot fi evitate în condiţiile efectuării corecte, în condiţii de asepsie a tehnicii).

XVI.3.2. AMNIOCENTEZA

Amniocenteza este efectuată în săptămânile 14-18 de gestaţie (rareori mai devreme) şi implică aspirarea a 10 – 20 ml de lichid amniotic, transabdominal, sub control ecografic (figura XVI.3.).

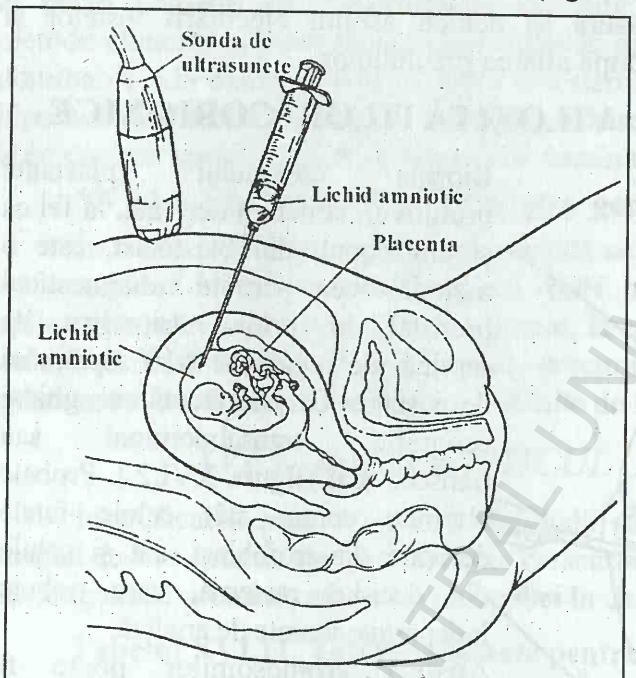


Figura XVI.3. Amniocenteza

Lichidul amniotic este centrifugat, supernatantul fiind utilizat pentru unele dozări enzimatice, iar concentratul celular este resuspendat într-un mediu de cultură special, necesar stimulării creşterii celulare. Rata de multiplicare este redusă, astfel că abia după 14-21 zile există un număr suficient de celule pentru analiza cromosomilor.

Analiza cromosomică clasică a amniocitelor poate fi precedată de o metodă citogenetică de screening bazată pe tehnica FISH. Astfel, prin folosirea unor sonde corespunzătoare cromosomilor 13, 18, 21, X şi Y poate fi suspectată prezenţa aneuploidiilor acestor cromosomi, care reprezintă mai mult de 95% din anomaliile cromosomice prezente la făt.

Pot fi efectuate şi dozări enzimatice, precum cele ale α-fetoproteinei şi a acetil-colinesterazei pentru diagnosticul prenatal al defectelor de tub neural, respectiv a fosfatazei alcaline intestinale pentru diagnosticul fibrozei chistice.

Metoda prezintă riscuri reduse (0,5-1% risc de pierdere a sarcinii şi 0,5-1% rezultate false) şi permite corelarea rezultatelor citogenetice şi moleculare cu cele ale ecografiei de înaltă rezoluţie. Un dezavantaj al metodei este posibilitatea întreruperii sarcinii, atunci când rezultatele sunt pozitive, abia în a doua jumătate a trimestrului II de sarcină. În plus, este o metodă costisitoare, costul variind între 300 şi 500 $ pentru un caz.

ECU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

XVI.3.3. CORDONOCENTEZA

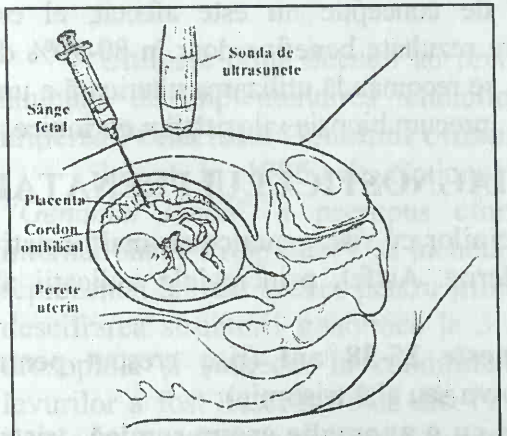


Figura XVI.4. Cordonocenteza

Este o metodă care constă în puncția transabdominală sau transvaginală a cordonului ombilical, sub control ecografic, în vederea obținerii unor mici cantități de sânge fetal (figura XVI.4.).

Metoda are aplicabilitate în săptămânile 20-24 de sarcină și este utilă pentru diagnosticul talasemiilor sau a altor hemoglobinopatii, hemofiliilor A și B, a incompatibilității materno-fetală în sistemul Rh, a unor sindroame cu instabilitate cromosomică, precum anemia Fanconi.

XVI.3.4. FETOSCOPIA ŞI BIOPSIA FETALĂ

Este o metodă utilizată în special în cursul celui de-al doilea trimestru de sarcină pentru diagnosticul prenatal al unor afecțiuni ereditare grave limitate numai la anumite organe sau țesuturi (boli ale pielii, precum epidermoliza buloasă, tulburări metabolice care interesează ficatul, precum deficiența de ornitin transcarbamilază, boli musculare etc.).

Fetoscopia are un risc de 3-5% rezultate false, iar acesta, alături de alte dezavantaje, explică de ce metoda este utilizată doar în centrele de diagnostic prenatal înalt specializate. Fetoscopia poate fi utilizată şi pentru tratamentul intrauterin al unor afecțiuni fetale.

XVI.3.5. ALTE METODE DE DIAGNOSTIC PRENATAL

XVI.3.5.1. Detecția celulelor fetale în circulația maternă

Utilizând anticorpi față de antigene specifice din trofoblastul fetal a fost demonstrată prezența unor celule fetale în circulația maternă încă din cursul primului trimestru de sarcină. Spre deosebire de hematiile adulte, hematiile fetale sunt nucleate şi pot fi cultivate *in vitro*. Metoda este utilă pentru diagnosticul prenatal al unui număr redus de boli, precum incompatibilitatea în sistemul Rh.

XVI.3.5.2. Diagnosticul genetic preimplantator

În cazul acestei metode se obține un ovocit de la partenera cuplului, care este apoi fertilizat in vitro. Zigotul rezultat este crescut *in vitro* până la stadiul de 8 celule (blastomer) când se izolează o singură celulă. Aceasta poate fi

cariotipată (când unul din părinţi are o anomalie cromosomică echilibrată) sau este analizată prin PCR (distrofia musculară Duchènne, fibroza chistică sau distrofia miotonică). Dacă produsul de concepţie nu este afectat, el este implantat în uterul matern. Metoda are rezultate benefice doar în 80-90% din cazuri. Pentru confirmarea rezultatului se recomandă utilizarea ulterioară a unei metode invazive de diagnostic prenatal, precum biopsia vilozităţilor corionice.

XVI.3.6. INDICAŢIILE DIAGNOSTICULUI PRENATAL

Detecţia cât mai precoce a sarcinilor cu risc genetic sau malformativ, este un deziderat al medicinei moderne. Astfel, principalele indicaţii ale diagnosticului prenatal sunt:

- **Vârsta maternă înaintată – peste 35-38 ani** (risc crescut pentru naşterea unui copil cu sindrom Down sau altă trisomie);
- **Existenţa în familie a unui copil cu o anomalie cromosomică** - riscul de recurenţă depinde de natura rearanjamentului cromosomic care a dus la naşterea copilului respectiv şi de segmentele cromosomice implicate;
- **Istoric familial de anomalii cromosomice** - impune confirmarea anomaliei cromosomice la individul afectat printr-o metodă invazivă de diagnostic prenatal;
- **Istoric familial de boală monogenică:** în cazul bolilor pentru care este posibil diagnosticul prenatal prin metode genetice sau dozări enzimatice;
- **Boli genetice transmise legat de cromosomul X** – când gravida este cert heterozigotă este utilă determinarea sexului fetal prin metode citogenetice sau moleculare.
- **Istoric familial pozitiv pentru defecte de tub neural** - în situaţiile cu risc empiric crescut se utilizează dozarea α-fetoproteinei în lichidul amniotic, în serul matern sau examinarea ecografică;
- **Istoric familial pozitiv pentru alte anomalii congenitale** – examinare ecografică amănunţită pentru anomalii specifice, realizată la 16-18 săptămâni de gestaţie;
- **Alţi factori de risc crescut.** Consanguinitatea creşte riscul pentru boli monogenice sau anomalii congenitale. Istoricul obstetrical cu peste trei avorturi spontane sau naşterea anterioară a unui copil mort sugerează existenţa la unul din părinţi a unei anomalii cromosomice echilibrate. Diabetul zaharat insulino-dependent prost echilibrat sau epilepsia tratată cu anticonvulsivante cu acţiune antifolică determină un risc crescut pentru anomalii structurale fetale şi sunt indicaţii pentru ecografia prenatală detaliată.

XVII. TENDINȚE ÎN GENETICA MODERNĂ

Ultimele două decenii au revoluționat genetica. Această schimbare, anunțată de implementarea tehnicilor ADN recombinant, a culminat cu inițierea **Proiectului Genomul Uman**.

Inițiat în 1985, de National Institut of Health (USA), proiectul *"Genomul uman"* a presupus eforturi colosale şi o largă colaborare internațională. Programat a se încheia în 2005, el a fost finalizat în 2003 şi a reprezentat un real succes pentru știința modernă. Proiectul inițial a prevăzut descifrarea structurii genomice la 5 specii: bacterii, levuri, viermi inelari, drosophila şi şoarece. În condițiile în care genomul bacterian şi cel al levurilor a fost descifrat încă din 1996, scopul proiectului a fost schimbat, fiind vizată stabilirea secvenței genomice umane.

Procesul s-a realizat în patru etape.

- realizarea unei *hărți genetice* amănunțite a cromosomilor, esențială pentru o cartografiere fină a genelor.
- stabilirea unei *hărți fizice,* complementare pentru fiecare cromosom uman în scopul de a localiza markerii genetici, determinând distanța reală ce separă genele.
- obținerea unor *clone diferite*, identificarea suprapunerilor dintre clone şi aranjarea lor în ordine exactă.
- determinarea *secvenței nucleotidice* pentru fiecare din clonele dintr-o regiune cromosomică.

Analiza datelor experimentale a stabilit că genomul uman are ~6 miliarde de perechi de baze şi doar aproximativ 30.000 de gene (un număr mult mai mic decât cel estimat inițial). Aceste gene codifică 100.000 de proteine, care pot fi grupate în 1.278 de familii, dar numai 89 sunt specifice vertebratelor. În aceste condiții, majoritatea proceselor bazale – transcripție, translație, replicare, diviziune – se produc la fel ca la bacterii. Astfel, complexitatea ființei umane în raport cu organismele inferioare nu este dată de numărul de gene[159], ci de modul de structurare şi de interacțiile dintre produşii funcționali ai genelor – proteinele.

Consecințele pentru biologie, medicină şi biotehnologii ale acestui proiect sunt inestimabile. Astfel, vor deveni cunoscute genele care determină structura şi funcțiile organismului uman, vor fi identificate genele mutante implicate în producerea bolilor genetice sau a cancerului, vor fi create premisele pentru proiectarea a noi remedii pe baze moleculare.

---

[159] De exemplu viermii inelari au 18.500 de gene

Studiul genomului uman a relevat existența a numeroase secvențe cromosomice cu microdeleții sau microduplicații. Aceste rearanjamente cromosomice pot modifica gene sau regiuni de control genic. Mutațiile genomice sunt de trei ori mai frecvente decât mutațiile punctiforme implicate în patogenia bolilor monogenice şi constituie o importantă sursă de variabilitate genetică. Cele mai multe mutații genomice sunt benigne, dar unele au fost asociate cu boli monogenice (de exemplu: acromatopsia sau boala Charcot-Marie-Tooth tip 1A) respectiv cu predispoziția genetică pentru boli multifactoriale (de exemplu: lupusul eritematos sistemic, boala Parkinson, boala Alzheimer, etc.). În plus, prin aplicarea microrețelelor genomice (*DNA-chips*) a fost posibilă detecția unor deleții sau duplicații submicroscopice răspunzătoare pentru apariția unor sindroame complexe ce asociază retard mental. De asemenea, studiile genomice ar putea elucida etiopatogenia unor boli rare, cu caracter sporadic, care momentan nu sunt clasificabile. În astfel de situații patologice, ar fi posibilă detecția unor modificări de număr (în plus sau în minus) a unor fragmente genomice.

Finalizarea Proiectului Genomul a furnizat secvența completă a celor şase miliarde de perechi de baze cuprinse în genomul uman. Această secvență nu este informativă, deoarece reprezintă o succesiune de 4 litere: A, C, G şi T. Multe dintre gene au fost identificate înainte de debutul proiectului Genomul Uman, iar altele au fost depistate pe baza structurii lor sau a conservării în cursul evoluției. În epoca postgenomică, principala direcție de cercetare este de a identifica secvențele genice active. Astfel, sunt necesare eforturi suplimentare pentru realizarea catalogului complet al genelor umane.

Următoarea sarcină a cercetătorilor este de a identifica funcția exactă a fiecărei gene, proces denumit **adnotare funcțională.** Principiul adnotării funcționale se bazează pe căutarea omologiei care indică că structurile similare, conservate pe parcursul evoluției, prezintă funcții similare. Genomica funcțională poate fi folosită pentru a îmbogăți informațiile furnizate de studiile de omologie genică, deoarece permite nu doar stabilirea funcției genice, ci identificarea întregului lanț metabolic, a conexiunilor şi a relațiilor complexe care tind a fi conservate în genomuri înrudite.

În momentul actual, funcția fiecărei gene este descrisă în raport cu funcția produsului genei respective. Deşi majoritatea genelor codifică proteine, există însă şi gene care codifică diferite forme de ARN. Funcția unei gene poate fi descrisă la trei niveluri: **biochimic, celular şi de organism.**

Pentru a aprecia modul în care funcțiile miilor de gene se combină, generând ființa umană, este necesară studierea directă a produsului genei.

Modalitățile de studiu ale genelor s-au modificat în ultimii 30 de ani prin trecerea de la o concepție *reducționistă*, ce implica studiul unei singure gene, la o concepție *holistică*, caracterizată prin analiza concomitentă a produşilor mai multor gene.

Analiza globală a funcției genelor constituie **genomica funcțională.** Conceptul de bază al genomicii funcționale este modalitatea de exprimare a genomului cu producerea **transcriptomului** şi **proteomului. Transcriptomul** reprezintă totalitatea ARNm dintr-o celulă şi constituie rezultanta proceselor de formare a moleculelor de ARNm prin transcripție şi a celor de distrugere a acestuia după translație. Pe de altă parte, **proteomul** reprezintă totalitatea proteinelor prezente într-o celulă la un moment dat.

Transcriptomul şi proteomul sunt mai ***complexe*** decât genomul datorită unei multitudini de procese. Astfel, o singură genă poate produce diferite molecule de ARNm prin: *matisare alternativă, activarea alternativă a diverşi promotori, poliadenilare diferențiată* sau *modelarea posttranscripțională a ARNm.* Pe de altă parte, proteinele sintetizate pe baza unei molecule de ARNm pot suferi diferite procese de modelare prin: *clivare proteolitică, fosforilare sau glicozilare.*

Datorită proceselor enumerate mai sus, deşi genomul **este identic în toate celulele, transcriptomul şi proteomul sunt diferite** în diverse celule. În plus, transcripția, modularea ARNm, sinteza proteică şi modificările postranslaționale ale proteinelor sunt reglate diferit în celule, ca răspuns la acțiunea factorilor ambientali.

Studiile de omologie genică au permis identificarea funcțională a 60% din gene. Pentru unele gene a fost posibilă identificarea funcției la nivel biochimic şi celular, în timp ce pentru altele a fost stabilită doar funcția biochimică. Restul de 40% din gene au funcție necunoscută, fiind considerate **gene orfane.** Pentru genele orfane, studiile de omologie nu asigură informații funcționale, iar identificarea funcției necesită folosirea altor metode precum: analiza profilului expresiei ARNm, analiza profilului expresiei proteice, compararea structurilor proteice, analiza interacțiunilor proteice sau analiza fenotipurilor mutante sau a fenocopiilor în organismele model.

Pentru genomul uman situația este mai complexă, deoarece funcția a mai mult de 25% dintre gene nu poate fi presupusă. În plus, deşi unele gene au fost identificate, structura lor nu poate fi stabilită precis datorită unor erori precum: exoni absenți, exoni incorect definiți, exoni „fantomă" sau gene fuzionate. Astfel, doar 1/3 din genele umane sunt descifrate funcțional complet.

Adnotarea funcțională bazată pe compararea secvențelor sau structurilor poate fi informativă, dar în multe cazuri ea poate furniza doar date biochimice preliminare, precum că proteina codificată de genă este o kinază

sau o proteină de legare la ADN. Sunt necesare experimente suplimentare pentru a determina funcţia genei la nivel celular sau de organism, respectiv pentru identificarea corelaţiilor funcţionale cu alte proteine. Profilul de expresie genică poate releva date referitoare la rolul ei în organism şi poate detecta legăturile funcţionale cu alte gene. Expresia majorităţii genelor se face doar în anumite celulele sau structuri de dezvoltare, ceea ce indică că genele respective sunt active doar în procese specifice celulelor (structurilor) respective. Alte gene devin active doar sub acţiunea unor factori ambientali, cum sunt agenţii chimici ce cauzează leziuni ale ADN-ului.

Genele cu profile de expresie similare sunt implicate probabil în procese similare. Stabilirea unei corelaţii funcţionale între o genă orfană şi una cu funcţie cunoscută, permite stabilirea funcţiei genei necunoscte pe baza unei „asocieri de vinovăţie". În plus, mutaţia unei gene poate influenţa profilul de expresie a unei alte gene, permiţând identificarea căilor metabolice şi a conexiunilor intergenice.

În mod obişnuit analiza expresiei genice se face cu tehnici de tip „genă la genă", precum: *northern blots, RT-PCR, hibridare in situ*. Unele din aceste tehnici au fost parţial adaptate pentru studiul profilului expresiei genelor necunoscute, fiind astfel posibilă efectuarea concomitentă a 10-20 de PCR-uri diferite, dar când se impune analiza concomitentă a sute sau mii de gene diferite aceste tehnici sunt complet depăşite.

Analiza concomitentă a mai multor gene are aplicaţii în bolile multifactoriale, precum astmul bronşic, scleroza multiplă sau boala Crohn. Astfel, în loc să fie analizate doar câteva gene candidat pot fi studiate mii gene, una dintre ele putând avea un profil modificat prin mutaţie.

Analiza transcriptomică a impus dezvoltarea de noi tehnologii care permit compararea concomitentă a mii de transcripturi, respectiv a gradului de exprimare a genei respective în probe celulare diferite. Există două tipuri de tehnici: **sisteme deschise** şi **sisteme închise**. *Sistemele deschise* se bazează pe analiza secvenţială a unor probe reprezentative de ADNc. *Sistemele închise* se bazează pe studii de hibridare şi implică folosirea de **microreţele de ADN**.

Analiza transcriptomică poate avea beneficii imediate. De exemplu, genele care intervin la debutul căii metabolice pot constitui ţinte pentru medicamente, în timp ce produsul genelor situate în avalul căii metabolice ar putea constitui medicamente *per se*. De altfel, implicarea elementelor genomice în răspunsul individual al organismului la medicamente constituie domeniul de interes al **farmacogenomicii.**

Medicamentele sunt transportate şi metabolizate de numeroase proteine sau enzime, care intervin pe căi multiple. Elucidarea completă a

acestor mecanisme este posibilă doar prin studierea *polimorfismului ADN* (secvențe nucleotidice, microsateliți, minisateliți) care oferă informații despre genele care codifică proteinele implicate în biotransformarea și acțiunea medicamentelor. În regiunile *codante* ale genelor există câteva zeci de mii de polimorfisme ale ADN-ului, unele dintre acestea fiind asociate cu modificări în metabolismul sau efectele medicamentelor. Astfel, *farmacogenomica* permite identificarea relației genotip-fenotip în cazul variațiilor farmacocinetice ale medicamentelor, respectiv ale polimorfismelor receptorilor și enzimelor implicate în acțiunea medicamentelor respective.

Evaluarea componentei ereditare a răspunsului la medicamente este dificilă datorită:

- unor cunoștințe incomplete despre farmacocinetica și mecanismul de acțiune a unor medicamente,
- determinismului poligenic al răspunsului organismului la droguri (necesită stabilirea relației dintre efectele medicamentelor și polimorfismele ADN)
- dificultăților de realizarea a studiilor familiale (necesită urmărirea îndelungată a unui număr mare de pacienți)
- necesității validării relațiilor farmacogenetice pentru fiecare indicație terapeutică, în raport cu eterogenitatea genetică populațională

Domeniile cercetării farmacogenomice sunt reprezentate de:

- identificarea genelor mutante, ce pot fi manipulate prin medicamente;
- identificarea polimorfismelor genetice implicate în metabolismul medicamentelor;
- individualizarea terapiei în funcție de profilul genetic individual pentru a evita reacțiile adverse;
- identificarea genelor implicate în răspunsul la tratament;
- determinarea tipurilor de expresie genică în țesuturile țintă precum și a interacțiunii dintre medicament și receptorul-țintă prin analiza mecanismului transcripțional raportat la acțiunea medicamentului.

Implementarea studiilor farmacogenomice este dificilă datorită costurilor ridicate ale analizelor genomice. Totuși, avantajele, reprezentate de reducerea frecvenței raspunsurilor adverse și creșterea eficenței terapeutice, ar justifica investițiile, astfel încât fiecare pacient să beneficieze de o terapie individualizată.

În viitorii ani, **principalele direcții de investigație genomică** vor fi probabil axate pe următoarele ținte:

- identificarea structurii tuturor proteinelor umane și a modului în care secvența de aminoacizi condiționează modul de asamblare a catenelor proteice;

- realizarea unui model computerizat în care să fie integrate date referitoare la toate componentele celulare, care să permită corelații biochimice multiple, astfel încât să poată fi prevăzut modul în care un organism reacționează la un anumit stimul extern;
- descifrarea întregului model de dezvoltare a organismului, identificând toate genele implicate, modul în care produşii acestor gene interacționează şi etapele ontogenetice în care intervin genele respective;
- descifrarea modului de evoluție a speciilor, inclusiv evoluția lui *Homo sapiens*;
- corectarea genomurilor, cu scopul eliminării efectelor negative ale mutațiilor;
- obținerea de specii noi sau ameliorate, respectiv, recreerea unor specii de plante şi animale dispărute, de interes pentru civilizația umană;
- trecerea la medicina moleculară, în care prevenția şi terapia să se facă individualizat în funcție de genomul fiecărei persoane;
- elaborarea unor repere morale şi bioetice, astfel încât aceste descoperiri să permită evoluția speciei umane şi nu distrugerea ei.

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

XVIII. BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. ***, Nature, 2001, 409, 6822
2. Alberts B., Bray D., Roberts K., Watson J., Raff M., Lewis J., *Molecular Biology of the Cell*, 2nd Ed., Garland Publisher, New York, 1989
3. Astărăstoae V., Stoica O., *Genetică versus Bioetică*, Editura Polirom, Iaşi, 2002
4. Beaundet A.L., *Introduction to Human Biochemical and Molecular Genetics*, McGraw Hill, New York, 1990
5. Bembea M., *Genetică medicală şi clinică*, Editura Universităţii Oradea, 2001
6. Brock D.J.H., *Molecular Genetics for the Clinician*, Cambridge University Press, 1993
7. Cassidy S.B., Allanson J.E., *Management of Genetic Syndromes*, 2nd Ed., Wiley-Liss, Hoboken NJ, 2005
8. Connor M., Ferguson-Smith M., *Medical Genetics*, 5th Ed., Blackwell Science, Oxford, 1997
9. Cornea C., Vatafu I., Barbu A., *Elemente de inginerie genetică*, Editua ALL, Bucureşti, 1998
10. Covic M., Ştefănescu D., Sandovici I., *Genetică medicală,* Ed. Polirom, Iaşi, 2004
11. Covic M., Angheloni T., Dimofte I., *Genetică umană – lucrări practice*, Litografia IMF Iaşi, 1976
12. Covic M., *Biologie şi genetică medicală*, Editura Didactică şi Pedagogică, Bucureşti, 1981
13. Covic M., Buhuşi M., *"Ereditatea şi genetica moleculară a bolii polichistice renale autosomal dominante"* în *Boala polichistică renală autosomal dominantă (ADPKD),* Covic M., Covic A. (ed.) Editura Polirom, Iaşi, 1999, pp 43-57
14. Daries K.E., *Human Genetic Disease Analysis*, IRL Press, Oxford, 1993
15. Elles R., *Molecular Diagnosis of Genetic Diseases*, Humana Press, Totowa, 1996
16. Feingold J., Serre J.L., *Genetique humaine*, Paris, INSERM 1993
17. Friedman J.M., Dill F.J., Hayden M.R., McGillivray B.C., *Genetics*, 2nd Ed., National Medical Series for Independent Study, Williams and Wilkins, Baltimore, 1996
18. Gelehrter T.D., Collins F.S., Ginsburg D., *Principles of Medical Genetics*, 2nd Ed., Williams and Wilkins, Baltimore, 1998
19. Gorduza E.V., Mustaţă A., Militaru M., Puiu M., *Bolile cromozomiale*, în Esenţialul în 101 boli genetice rare, Eds. Puiu M., Ed. Orizonturi Universitare, Timişoara, 2007
20. Gorduza E.V., Stoica O., *Elemente de Genetică Umană,* Ed. Timpul, Iaşi, 2003
21. Gorduza E.V., Buhuşi M., Rusu C., *Genetică umană – manual de lucrări practice*, Ed. Kollos Grup, Iaşi, 2003
22. Gorduza V.M., Tofan L., Şuteu D., Gorduza E. V., *Biomateriale, Biotehnologii, Biocontrol*, Editura CERMI, Iaşi, 2002
23. Harper P.S., *Practical Genetic Counseling*, 5th Ed., Butterworth Heinemann, Oxford, 1998

POLITEHNICA UNIVERSITY LIBRARY

24. Hartl D.L., Freifelder D., Snyder L.A., *Basic Genetics*, Jones and Bartlett Publishers, Boston, 1988
25. Hertzog Z.I., *Elemente de genetică moleculară*, Ed. Didactică şi Pedagogică, Bucureşti, 1996;
26. Hofee P.A., *Medical Molecular Genetics*, Fence Creek Publ., Madison, 1998
27. Jameson J.L. (ed), *Principles of Molecular Medicine*, Humana Press, Totowa, 1998
28. Jorde L.B., Carey J.C., Bamshad M.J., Whyte R.L., *Medical Genetics*, Mosby Inc, St. Louis, 1999
29. Korf B.R., *Human Genetics – a Problem-based Approach*, Blackwell Science, Cambridge, MA, 1996
30. Lyonnet S., Munnich A. (eds.) *Genetique pediatrique*, Doin Editeurs, Paris 1997
31. Maximilian C., Ioan D., *Genetică medicală*, Ed. Medicală, Bucureşti 1986
32. Maximilian C., Ionescu B., *Citogenetică medicală umană*, Editura Academiei Române, Bucureşti, 1978
33. Moore K.L., Persaud T.V.N., *Before we are born – essentials of embriology and birth defects*, 6th Ed., Saunders Press, Philadelphia 2003
34. Mueller R.F., Young J.D., *Emery's Elements of Medical Genetics*, 10th Ed., Churchill Livingstone, London, 1999
35. Nussbaums R.L., McInnes R.R., Willard H.F. (eds.), *Thompson &Thompson Genetics in Medicine*, 6th Edition, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 2001
36. Passarge E., *Color Atlas of Genetics,* Thieme Verlag Stuttgart, 1995
37. Raicu P., *Genetică generală şi umană*, Editura Humanitas, Bucureşti, 1997
38. Rimoin D., Connor M., Pyeritz R., *Emery's Principles and Practice of Medical Genetics*, Churchill Livingstone, 1997
39. Schwartzacher T., Heslop-Harrison P., *Practical in situ Hybridization*, BIOS Scientific Publisher Limited, Oxford, 2000
40. Scriver Ch., Beaudet A., Sly W., Valle D., *The metabolic and molecular basis of inherited disease*, McGraw Hill Comp., 1995
41. Ştefănescu D., Călin G., *Genetica şi cancerul*, Ed. Didactică şi Pedagogică, Bucureşti, 1996
42. Strachan T., Read A.P., *Human Molecular Genetics*, 3nd Ed., Garland Publishing, New York, 2004
43. Tudose O., Belengeanu V., Puiu M., Stoicănescu D., Gug C., Moga M., *Genetică medicală*, Editura Orizonturi Universitare, Timişoara, 2000
44. Wilson G.N., *Clinical Genetics a Short Course*, Wiley-Liss Inc., New York, 2000
45. Young I.D., *Introduction to Risk Calculation in Genetic Counseling*, Oxford University Press, 1999
46. Young I.D., *Medical Genetics*, Oxford University Press, 2005

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

CUPRINS

PREFAȚĂ.....3

I. INTRODUCERE.....5
Eusebiu Vlad Gorduza

II. DETERMINISMUL GENETIC AL CARACTERELOR FENOTIPICE
Eusebiu Vlad Gorduza

II.1. INDIVIDUALITATEA GENETICĂ ŞI BIOLOGICĂ.....*9*
II.1.1. Individualitatea genetică.....9
II.1.2. Individualitatea biologică.....10
II.1.3. Importanța conceptului de individualitate genetică şi biologică...10
II.2. DETERMINISMUL CARACTERELOR FENOTIPICE.....*10*
II.2.1. Caractere fenotipice pur ereditare.....11
II.2.2. Caractere determinate de interacțiunea ereditate – mediu.....13
II.2.3. Caractere determinate de mediu.....15
II.3. RELAȚIA GENOTIP-FENOTIP- MEDIU.....*15*
II.3.1. Relația genotip → fenotip.....15
II.3.2. Relația mediu → fenotip.....17
II.3.3. Relația mediu → genotip.....17
II.3.4. Relația genotip – fenotip - mediu la nivel molecular.....17

III. STOCAREA INFORMAȚIEI GENETICE
Eusebiu Vlad Gorduza, Ortansa Felicia Stoica

III.1. STRUCTURA ACIDULUI DEOXIRIBONUCLEIC.....*19*
III.1.1. Structura primară a ADN-ului.....19
III.1.2. Structura secundară a ADN-ului.....21
III.1.3. Particularitățile structurii ADN la eucariote.....22
III.1.3.1. Cantitatea de ADN.....*22*
III.1.3.2. Eterogenitatea secvențelor nucleotidice ale ADN-ului.....*23*
III.1.3.3. Asocierea ADN - proteine......*25*
III.2. ORGANIZAREA SUPRAMOLECULARĂ A ADN-ULUI.....*26*
III.2.1. Aparatul genetic al celulei.....26
III.2.1.1. Nucleul.....*26*
III.2.1.2. Mitocondriile.....*28*
III.2.1.3. Centriolii.....*28*
III.2.1.4. Ribosomii.....*28*

BCU CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

III.2.2. Cromatina 28
III.2.2.1. Aspectul cromatinei la microscopul optic 28
III.2.2.2. Cromatina sexuală 29
III.2.2.3. Structura supramoleculară a cromatinei 35
III.2.3. Cromosomii umani 37
III.2.3.1. Morfologia cromosomilor umani 37
III.2.3.2. Metode de studiu al cromosomilor umani 40
III.2.3.3. Clasificarea şi identificarea cromosomilor umani 42
III.2.3.4. Tehnici de analiză cromosomică 43
III.2.3.4.1. Tehnicile de generaţia a I-a. 44
III.2.3.4.2. Tehnicile de generaţia a II-a 45
III.2.3.4.3. Tehnici de generaţia a III-a 46
III.2.3.4.4. Tehnici de generaţia a IV-a 47

IV.. GENA - UNITATE DE STRUCTURĂ, FUNCŢIE ŞI MUTAŢIE

Eusebiu Vlad Gorduza

IV.1. CONCEPŢIA CLASICĂ DESPRE STRUCTURA GENEI 51
IV.1.1. Gena - unitate de structură a materialului genetic 51
IV.1.2. Înlănţuirea genică 52
IV.2. CONCEPŢIA ACTUALĂ DESPRE STRUCTURA GENEI 54
IV.2.1. Regiunea centrală a genei 55
IV.2.2. Regiunile laterale ale genei 57
IV.2.2.1. Regiunea 5' 57
IV.2.2.2. Regiunea laterală 3' 57
IV.2.3 Tipuri de gene 58
IV.2.4. Elemente genetice mobile 59
IV.3. CONCEPŢIA CLASICĂ DESPRE FUNCŢIA GENEI 60
IV.3.1. Poligenia 61
IV.3.2. Pleiotropia 62
IV.3.3. Interacţiunile genice 63
IV.3.3.1. Interacţiuni alelice 64
IV.3.3.2. Interacţiuni nealelice 65
IV.3.3.3. Interacţiunile genelor cu mediul 66
IV.3.4. Eterogenitatea genetică 68
IV.4. CONCEPŢIA ACTUALĂ DESPRE FUNCŢIA GENEI 72
IV.4.1. Genele controlează sinteza proteinelor 72
IV.4.2. Relaţia o genă → o proteină 73
IV.4.3. Complexitatea relaţiei o genă →o proteină 76
IV.4.3.1. Relaţia "o genă → mai multe polipeptide" 76
IV.4.3.2. Relaţia "mai multe gene → o singură polipeptidă" 77
IV.4.4. Interacţiunile genice în concepţia actuală 78
IV.4.4.1. Interacţiuni alelice 79
IV.4.4.2. Interacţiuni nealelice 79

V. EXPRESIA GENICĂ
Eusebiu Vlad Gorduza

V.1. TRANSCRIPȚIA 82
V.1.1. Tipuri de ARN 82
V.1.2. Mecanismul transcripției 83
V.1.2.1. Formarea preARNm 84
V.1.2.2. Maturarea ARNm 85
V.2. TRANSLAȚIA 86
V.2.1. Aparatul de translație 87
V.2.2. Codul genetic 88
V.2.3. Etapele translației 90
V.2.3.1. Inițierea translației 90
V.2.3.2. Elongația 91
V.2.3.3. Terminarea translației 92
V.3. REGLAREA EXPRESIEI GENICE 92
V.3.1. Reglarea globală a expresiei genice 92
V.3.1.1. Semnalizarea localizată dependentă de poziția celulei 93
V.3.1.2. Amprentarea genetică 93
V.3.1.3. Inactivarea cromosomului X 94
V.3.1.4. Recombinările somatice 94
V.3.1.5. Competiția pentru activator/inhibitor 95
V.3.2. Reglarea transcripțională 95
V.3.3. Reglarea posttranscripțională 97
V.3.3.1. Unități transcripționale multigenice 97
V.3.3.2. Matisarea și poliadenilarea alternativă 97
V.3.3.3. Modificarea secvenței nucleotidice a ARNm 98
V.3.4. Reglarea translațională 98
V.3.5. Reglarea posttranslațională 98
V.3.5.1. Modificări chimice posttranslaționale 98
V.3.5.2. Clivarea posttranslațională a peptidelor 99

VI. TRANSMITEREA INFORMAȚIEI GENETICE
Eusebiu Vlad Gorduza

VI.1. LEGILE MENDEL 101
VI.1.1. Legea a-I-a a lui Mendel 102
VI.1.2. Legea a-II-a a lui Mendel 102
VI.2. CICLUL CELULAR 104
VI.2.1. Fazele ciclului celular mitotic 105
VI.2.1.1. Interfaza 105
VI.2.1.2. Diviziunea celulară 107
VI.2.2. Evoluția celulelor după diviziune 108

BIBLIOTECA UNIVERSITY LIBRARY

VI.3. REPLICAREA MOLECULEI DE ADN.....109
VI.4. DIVIZIUNEA CELULEI.....113
VI.4.1. Mitoza.....113
VI.4.1.1. Profaza.....113
VI.4.1.2. Prometafaza.....114
VI.4.1.3. Metafaza.....114
VI.4.1.4. Anafaza.....114
VI.4.1.5. Telofaza.....115
VI.4.2. Meioza.....115
VI.4.2.1. Meioza I.....116
VI.4. 2.1.1. Profaza I.....117
VI.4.2.1.2. Metafaza I.....119
VI.4.2.1.3. Anafaza I.....119
VI.4.2.1.4. Telofaza I.....119
VI.4.2.2. Meioza II.....119
VI.4.2.3. Particularităţile meiozei la bărbat şi femeie.....120
VI.5. FECUNDAREA.....122

VII. VARIABILITATEA GENETICĂ
Eusebiu Vlad Gorduza, Ortansa Felicia Stoica

VII.1. RECOMBINAREA GENETICĂ.....123
VII.1.1. Recombinarea meiotică.....123
VII.1.1.1. Recombinarea intracromosomică.....123
VII.1.1.2. Recombinarea intercromosomică.....125
VII.1.2. Recombinarea genomică.....125
VII.2. POLIMORFISMUL GENETIC.....125
VII.2.1. Polimorfismul proteic şi enzimatic.....126
VII.2.1.1. Polimorfismul grupelor sanguine AB0.....126
VII.2.1.2. Polimorfismul grupelor sanguine Rh.....128
VII.2.1.3. Polimorfismul grupelor tisulare.....131
VII.2.1.4. Ecogenetica 132
VII.2.1.5. Farmacogenetica.....133
VII.2.1.5.1. Faza I de biotransformare a medicamentelor.....134
VII. 2.1.5.2. Faza II de conjugare enzimatică a medicamentelor.....135
VII.2.1.6. Valoarea teoretică şi practică a studiului caracterelor ereditare normale.. 136
VII.2.2. Polimorfismul ADN.....140
VII.2.2.1. Polimorfismul lungimii fragmentelor de restricţie.....140
VII.2.2.2. Polimorfismul secvenţelor repetitive în tandem.....141
VII.2.2.3. Polimorfismul microsateliţilor.....141
VII.2.2.4. Aplicaţiile practice ale studiului polimorfismului ADN.....143
VII.3. MUTAŢIILE GENETICE.....143
VII.3.1. Clasificarea mutaţiilor.....143

BCU CLUJ UNIVERSITY LIBRARY

VII.3.2. Mutațiile genomice 145
VII.3.2.1. Mecanismele de producere a mutațiilor genomice 146
VII.3.2.2. Etiologia mutațiilor genomice 149
VII.3.2.3. Consecințele mutațiilor genomice 149
VII.3.3. Mutațiile cromosomice 150
VII.3.3.1. Cauzele mutațiilor cromosomice 150
VII.3.3.2. Mecanismul de producre al mutațiilor cromosomice 151
VII.3.3.2.1. Anomalii cromosomice structurale echilibrate 151
VII.3.3.2.2. Anomalii cromosomice structurale neechilibrate 155
VII.3.3.3. Consecințele mutațiilor cromosomice 161
VII.3.3.3.1. Consecințele anomaliilor cromosomice echilibrate 161
VII.3.3.3.2. Consecințele anomaliilor cromosomice neechilibrate 165
VII.3.4. Mutațiile genice nucleare 165
VII.3.4.1. Originea mutațiilor genice 166
VII.3.4.1.1. Erori de replicare a ADN-ului 166
VII.3.4.1.2. Erori de reparare a leziunilor ADN-ului 166
VI.3.4.2. Mecanismele de producere şi efectele mutațiilor genice 166
VII.3.4.2.1. Substituțiile genice 167
VII.3.4.2.2. Delețiile şi inserțiile genice 170
VII.3.4.2.3. Mutațiile dinamice 171
VII.3.4.2.4. Efectele mutațiilor genice nucleare 173
VII.3.5. Mutațiile genice mitocondriale 175
VII.4. VARIABILITATEA POPULAȚIONALĂ 176
VII.4.1. Căsătoriile neîntâmplătoare 178
VII.4.2. Populațiile reduse 180
VII.4.3. Mutațiile şi variabilitatea populațională 181
VII.4.4. Selecția 181
VII.4.5. Migrațiile şi fluxul genic 182

VIII. TEHNOLOGIA ADN RECOMBINANT
Eusebiu Vlad Gorduza, Ortansa Felicia Stoica

VIII.1. PRINCIPIILE TEHNOLOGIEI ADN – RECOMBINANT 183
VIII.2. OBȚINEREA UNOR GENE SAU FRAGMENTE GENICE 185
VIII.2.1. Enzime de restricție 185
VIII.2.2. ADN complementar (ADN-c) 187
VIII.2.3. Sinteza unei molecule de ADN folosind nucleotide activate 187
VIII.3. CLONAREA MOLECULARĂ 187
VIII.3.1. Vectori 188
VIII.3.2. Celule gazdă 191
VIII.3.3. Etapele clonării moleculare 191
VIII.3.4. Construcția bibliotecilor de gene 192
VIII.4. METODE DE ANALIZĂ A ACIZILOR NUCLEICI 193
VIII.4.1. Hibridarea moleculară 193
VIII.4.2. Analiza ADN genomic 195

VIII.4.3. Analiza ARN mesager.....198
VIII.5. AMPLIFICAREA SELECTIVĂ A SECVENȚELOR DE ACIZI NUCLEICI PRIN METODA "POLYMERASE CHAIN REACTION".....198
VIII.6. ANALIZA SECVENȚEI NUCLEOTIDELOR 201
VIII.6.1. Metoda chimică Maxan – Gilbert.....201
VIII.6.2. Metoda enzimatică Sanger.....201
VIII.7. METODE DE ANALIZĂ A PROTEINELOR.....202

IX. CONSULTUL GENETIC
Eusebiu Vlad Gorduza

IX.1. CLASIFICAREA BOLILOR GENETICE.....203
IX.1.1. Bolile cromosomice.....203
IX.1.2. Bolile monogenice.....204
IX.1.3. Bolile mitocondriale.....204
IX.1.4. Bolile multifactoriale.....205
IX.1.5. Boli prin mutații ale genomului somatic 205
IX.2. PARTICULARITĂȚILE GENERALE ALE BOLILOR GENETICE..206
IX.2.1. Distribuția familială.....206
IX.2.2. Transmiterea genealogică.....206
IX.2.3. Manifestarea congenitală.....207
IX.2.4. Identitatea caracterului la gemenii monozigoți 207
IX.2.5. Asocierea cu un marker genetic.....207
IX.2.6. Apariția spontană.....207
IX.2.7. Prezența anomaliilor cromosomice.....208
IX.2.8. Frecvența diferită în populații diferite.....208
IX.3. EFECTUL BOLILOR GENETICE ASUPRA STĂRII DE SĂNĂTATE....208
IX.4. OBIECTIVELE CONSULTULUI GENETIC.....209
IX.4.1. Circumstanțele de acordare şi indicațiile consultului genetic....210
IX.4.2. Etapele consultului genetic.....211
IX.4.2.1. Anamneza familială 211
IX.4.2.2. Examenul clinic.....215
IX.4.2.3. Investigații paraclinice.....215
IX.4.2.4. Analiza şi sinteza datelor 216

X. BOLILE CROMOSOMICE
Eusebiu Vlad Gorduza

X.1.BOLI PRIN ANEUPLOIDII AUTOSOMALE COMPLETE.....218
X.1.1. Sindromul Down.....218
X.1.2. Sindromul Edwards.....224
X.1.3. Sindromul Patau.....224
X.2.BOLI PRIN ANEUPLOIDII AUTOSOMALE PARȚIALE.....227

ECU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

X.2.1. Sindromul Wolf-Hirschhorn....227
X.2.2. Sindromul *cri du chat*....228
X.2.3. Sindroame produse de microdelețiii sau microduplicații cromosomice....230
X.2.3.1. Sindromul Prader-Willi....231
X.2.3.2. Sindromul Angelman....235
X.3.BOLI PRIN ANEUPLOIDII GONOSOMALE....237
X.3.1. Sindromul Turner....237
X.3.2. Sindromul Klinefelter....241
X.4. TULBURĂRI DE REPRODUCERE DE CAUZĂ CROMOSOMICĂ...245
X.4.1. Sterilitatea de cauză cromosomică....245
X.4.1.1. Sterilitatea feminină cromosomică....245
X.4.1.1.1. Sindromul Turner....245
X.4.1.1.2. Sindromul triplo X....246
X.4.1.1.3. Translocațiile X-autosom....246
X.4.1.2. Sterilitatea masculină cromosomică....247
X.4.1.2.1. Sindromul Klinefelter....247
X.4.1.2.2. Bărbații XYY....247
X.4.1.2.3. Trisomiile autosomale....247
X.4.1.2.4. Bărbații XX....247
X.4.1.2.5. Anomalii structurale ale cromosomului Y....247
X.4.1.2.6. Anomalii structurale echilibrate....248
X.4.2. Infertilitatea de cauză cromosomică....249
X.4.2.1. Avorturile spontane....249
X.4.2.2. Avorturile recurente....250
X.4.2.3. Nou-născuții morți....251
X.5. INDICAȚIILE PRACTICE ALE STUDIULUI CROMOSOMILOR UMANI....251

XI. BOLILE MONOGENICE
Eusebiu Vlad Gorduza

XI.1. GENERALITĂȚI....253
XI.2. TRANSMITEREA DOMINANTĂ....255
XI.2.1. Transmiterea dominantă autosomală....256
XI.2.2. Transmiterea dominantă legată de cromosomul X....257
XI.3. TRANSMITEREA RECESIVĂ....259
XI.3.1. Transmiterea recesivă autosomală....261
XI.3.2. Transmiterea recesivă legată de cromosomul X....262
XI.4. MANIFESTĂRI VARIABILE ALE MUTAȚIILOR GENICE....263
XI.4.1. Penetranța incompletă....264
XI.4.2. Expresivitatea variabilă....265
XI.4.3. Specificitatea de organ....265
XI.4.4. Pleiotropia....266

BUCHAREST CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

XI.4.5. Eterogenitatea genetică....266
XI.4.6. Consanguinitatea....266
XI.5. BOLILE MOLECULARE....267
XI.5.1. Deficite enzimatice....269
XI.5.1.1. Fenilcetonuria....272
XI.5.1.2. Galactozemia....274
XI.5.1.3. Sindromul adreno-genital....276
XI.5.1.4. Boala Niemann-Pick....277
XI.5.1.5. Deficitul de ornitin-transcarbamilază....279
XI.5.2. Boli prin deficite ale proteinelor implicate în transport şi stocaj....281
XI.5.2.1. Hemoglobinopatii....281
XI.5.2.1.1. α-Talasemia....282
XI.5.2.1.2. β-Talasemia....284
XI.5.2.2. Fibroza chistică....285
XI.5.3. Boli prin defecte ale proteinelor de structură....287
XI.5.4. Boli prin defecte ale proteinelor implicate în homeostazia organismului....290
XI.5.5. Boli prin defecte ale proteinelor implicate în expresia genică ..291
XI.5.6. Boli prin defecte ale proteinelor implicate în dezvoltare....292
XI.5.7. Boli prin defecte ale proteinelor implicate în metabolismul şi comunicarea intercelulară....294
XI.5.7.1. Sindromul Morris....295
XI.5.7.2. Acondroplazia....295
XI.5.7.3. Hipercolesterolemia familială....296

XII. BOLILE MULTIFACTORIALE
Eusebiu Vlad Gorduza

XII.1. TIPURI DE EREDITATE MULTIFACTORIALĂ....300
XII.1.1. Ereditatea multifactorială a caracterelor cantitative....300
XII.1.2. Ereditatea multifactorială cu prag....302
XII.1.3. Ereditatea oligogenică....302
XII.2. RISCUL DE RECURENȚĂ ÎN AFECȚIUNILE MULTIFACTORIALE....304
XII.3. METODE DE APRECIERE A DETERMINISMULUI GENETIC AL UNUI CARACTER MULTIFACTORIAL....305
XII.3.1. Studiul gemenilor....305
XII.3.2. Studiile de adopție....306
XII.4. IDENTIFICAREA GENELOR IMPLICATE ÎN DETERMINISMUL CARACTERELOR MULTIFACTORIALE....307
XII.5. EXEMPLE DE BOLI MULTIFACTORIALE....308
XII.5.1. Anomalii congenitale izolate....308
XII.5.1.1. Defectele de tub neural....308
XII.5.1.2. Despicăturile buco-maxilo-palatine....309

XII.5.2. Bolile comune ale adultului.....311
XII.5.2.1. Boala Alzheimer.....311
XII.5.2.2. Boala coronariană.....313
XII.5.2.3. Diabetul zaharat.....315
XII.5.2.3.1. Diabetul zaharat de tip I 316
XII.5.2.3.2. Diabetul zaharat de tip II.....317
XII.5.2.3.3. Diabetul zaharat de tip MODY.....318
XII.5.2.4. Hipertensiunea arterială.....319

XIII. IMPLICAȚII GENETICE ÎN DEZVOLTARE

Eusebiu Vlad Gorduza, Elena Emanuela Braha, Lăcrămioara Butnariu

XIII.1. DEZVOLTAREA NORMALĂ.....321
XIII.1.1. Procese implicate în dezvoltare.....321
XIII.1.1.1. Inducția embrionară.....321
XIII.1.1.2. Adeziunea intercelulară.....322
XIII.1.1.3. Apoptoza.....323
XIII.1.2. Familii de gene implicate în dezvoltare.....323
XIII.1.2.1. Familia de gene HOX.....323
XIII.1.2.2. Familia de gene PAX.....324
XIII.1.3. Căi de dezvoltare genetică.....325
XIII.1.4. Modele de dezvoltare genetică.....326
XIII.1.4.1. Sexualizarea masculină.....327
XIII.1.4.1.1. Determinismul sexual masculin.....327
XIII.1.4.1.2. Diferențierea sexuală masculină.....328
XIII.1.4.1.3. Controlul determinismului și diferențierii masculine.....329
XIII.1.4.2. Sexualizarea feminină.....331
XIII.1.4.2.1. Determinismul sexual feminin.....331
XIII.1.4.2.2. Diferențierea sexuală feminină.....332
XIII.1.4.2.3. Controlul determinismului și diferențierii feminine.....333
XIII.2. ANOMALIILE CONGENITALE.....333
XIII.2.1. Clasificarea anomaliilor congenitale.....333
XIII.2.1.1. Clasificarea patogenică a anomaliilor congenitale.....334
XIII.2.1.1.1. Malformațiile congenitale.....334
XIII.2.1.1.2. Displaziile congenitale.....335
XIII.2.1.1.3. Disrupțiile congenitale.....335
XIII.2.1.1.4. Deformațiile congenitale.....335
XIII.2.1.2. Clasificarea clinică a anomaliilor congenitale.....336
XIII.2.1.2.1. Anomaliile congenitale izolate.....336
XIII.2.1.2.2. Anomaliile congenitale multiple.....337
XIII.2.2. Etiologia anomaliilor congenitale.....338
XIII.2.2.1. Cauzele genetice ale anomaliilor congenitale.....338
XIII.2.2.2. Cauzele ecologice ale anomaliilor congenitale.....340
XIII.2.2.2.1. Factorii teratogeni infecțioși.....342
XIII.2.2.2.2. Factorii teratogeni fizici.....344

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

XIII.2.2.2.3. Factorii teratogeni chimici....344
XIII.2.2.2.4. Factorii teratogeni materni....349
XIII.2.3. Profilaxia anomaliilor congenitale....350
XIII.3. ANOMALIILE SEXUALIZĂRII....350
XIII.3.1. Anomaliile gonosomale....351
XIII.3.1.1. Sindromul bărbaților 46,XX....352
XIII.3.1.2. Disgenezia gonadică mixtă 45,X/46,XY....353
XIII.3.1.3. Hermafroditismul adevărat....353
XIII.3.2. Anomaliile determinismului sexual....353
XIII.3.2.1. Disgenezia gonadică pură cu cariotip 46,XX....354
XIII.3.2.2. Disgenezia gonadică pură cu cariotip 46,XY....354
XIII.3.2.3. Sindromul testiculelor absente....355
XIII.3.3. Anomaliile diferențierii sexuale....355
XIII.3.3.1. Pseudohermafroditismele feminine....355
XIII.3.3.1.1. Anomalii în sinteza hormonilor sexuali....356
XIII.3.3.1.2. Pseudohermafroditisme feminine prin exces matern de androgeni....359
XIII.3.3.1.3. Sindromul Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser....359
XIII.3.3.2. Pseudohermafroditismele masculine....359
XIII.3.3.2.1. Defecte ale hormonilor ce controlează androgeneza....359
XIII.3.3.2.2. Defecte în sinteza androgenilor....359
XIII.3.3.2.3. Defecte în acțiunea androgenilor....361
XIII.3.3.2.4. Defecte în acțiunea hormonului antimüllerian....362
XIII.3.3.2.5. Erori de morfogeneză a organelor genitale externe....362
XIII.3.4. Conduita practică în anomaliile de sexualizare....362

XIV. GENETICA BOLII CANCEROASE
Eusebiu Vlad Gorduza, Ortansa Felicia Stoica

XIV.1. GENE IMPLICATE ÎN CANCER....366
XIV.1.1. Oncogene....366
XIV.1.2. Gene supresoare de tumori....369
XIV.1.3. Gene implicate în repararea leziunilor ADN....370
XIV.2. CANCERE EREDITARE....372
XIV.2.1. Cancerul mamar ereditar....372
XIV.2.2. Cancerele ereditare de colon....374
XIV.2.2.1. Polipoza adenomatoasă familială....374
XIV.2.2.2. Cancerul de colon non-polipozic ereditar....376
XIV.2.3. Neurofibromatozele....377
XIV.2.3.1. Neurofibromatoza tip 1....377
XIV.2.3.2. Neurofibromatoza tip 2....378

XV. SFATUL GENETIC
Eusebiu Vlad Gorduza

XV.1. CIRCUMSTANȚE DE ACORDARE A SFATULUI GENETIC.....379
XV.2. ETAPELE ACORDĂRII SFATULUI GENETIC.....380
XV.3. RISCUL DE RECURENȚĂ ÎN BOLI GENETICE.....385
XV.3.1. Riscul genetic în boli cromosomice.....385
XV.3.1.1. Sfatul genetic în familiile cu boli cromosomice.....385
XV.3.1.2.. Sfatul genetic în anomalii cromosomice structurale echilibrate.....387
XV.3.1.2.1. Translocații reciproce echilibrate.....387
XV.3.1.2.2. Translocații robertsoniene.....388
XV.3.1.2.3. Inversii pericentrice.....388
XV.3.1.2.4. Inversiile paracentrice.....389
XV.3.1.2.5. Inserții.....389
XV.3.2. Riscul genetic în boli monogenice.....390
XV.3.2.1. Calculul probabilistic în bolile monogenice.....390
XV.3.2.2. Sfatul genetic în boli dominante.....393
XV.3.2.2.1. Boli dominante fără manifestări variabile.....393
XV.3.2.2.2. Boli dominante cu penetranță incompletă.....394
XV.3.2.2.3. Boli dominante cu expresivitatea variabilă.....394
XV.3.2.2.4. Boli dominant autosomale cu anticipație.....396
XV.3.2.3. Sfatul genetic în bolile recesiv autosomale.....396
XV.3.2.4. Sfatul genetic în boli recesive cu transmitere legată de cromosomul X.....398
XV.3.3. Riscul genetic în boli multifactoriale.....399
XV.4. CATEGORII DE RISC GENETIC.....400

XVI. PROFILAXIA BOLILOR GENETICE
Eusebiu Vlad Gorduza

XVI.1. DIRECȚII DE PROFILAXIE.....403
XVI.1.1. Profilaxia primară.....403
XVI.1.2. Profilaxia secundară.....404
XVI.2. SCREENING-UL POPULAȚIONAL AL BOLILOR GENETICE.....405
XVI.2.1. Screening-ul prenatal.....406
XVI.2.1.1. Screeningul biochimic.....407
XVI.2.1.2. Screeningul ecografic.....408
XVI.2.2. Screening-ul neonatal.....410
XVI.2.2.1. Screeningul neonatal al fenilcetonuriei.....410
XVI.2.2.2. Screeningul neonatal al hipotiroidiei.....411
XVI.2.2.3. Screeningul neonatal al galactozemiei.....411
XVI.2.2.4. Screeningul neonatal al mucoviscidozei.....411
XVI.2.3. Screeningul purtătorilor de mutații.....412

BCU "CAROL I" - UNIVERSITY LIBRARY

XVI.2.3.1. Depistarea heterozigoților pentru mutații recesive.....412
XVI.2.3.1.1. Evidențierea unor manifestări clinice minore.....413
XVI.2.3.1.2. Evidențierea de modificări histo- sau fiziopatologice.....413
XVI.2.3.1.3. Evidențierea unor modificări biochimice.....413
XVI.2.3.1.4. Detecția mutației la nivel de ADN.....414
XVI.2.3.2. Diagnosticul presimptomatic în boli dominante.....415
XVI.2.3.2.1. Examinarea clinică.....415
XVI.2.3.2.2. Investigațiile paraclinice.....415
XVI.2.3.2.3. Teste biochimice.....416
XVI.2.3.2.4. Analize de înlănțuire genică.....416
XVI.3. DIAGNOSTICUL PRENATAL.....416
XVI.3.1. Biopsia vilozităților corionice.....417
XVI.3.2. Amniocenteza.....418
XVI.3.3. Cordonocenteza.....419
XVI.3.4. Fetoscopia şi biopsia fetală.....419
XVI.3.5. Alte metode de diagnostic prenatal.....419
XVI.3.5.1. Detecția celulelor fetale în circulația maternă.....419
XVI.3.5.2. Diagnosticul genetic preimplantator.....419
XVI.3.6. Indicațiile diagnosticului prenatal.....420

XVII. TENDINȚE ÎN GENETICA MODERNĂ.....421
Eusebiu Vlad Gorduza

XVIII. BIBLIOGRAFIE.....427

CUPRINS.....429

Biblioteca Centrală Universitară
BIBLIOTEKA DE MEDICINĂ
Cota veche 43
Preţul lei

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

La Editura TEHNOPRESS au mai apărut:

Seria HIPOCRATE

Theodor Stamate – *Microchirurgia reconstructivă a nervilor periferici*
Gheorghe Dorobăț – *ARDS. Plămînul de şoc*
Sergiu Buiuc – *Principii teoretice şi practice de oftalmologie*
Carol Stanciu – *Helicobanter pylori în patologia umană*
V. Luca, Carmen Dorobăț, Gh. Dorobăț – *Terapia intensivă în bolile infecțioase severe*
Gheorghe Dorobăț – *Anestezia generală în ambulatorul stomatologic*
J. Crofton, N. Horne, F. Miller – *Tuberculoza*
Gheorghe Dorobăț, Carmen Dorobăț – *Urgențe medicale în medicina dentară*
Maria Rodica Prodan – *Patologia neurologică a adultului*
Maria Rodica Prodan – *Coma - evaluare şi management*
Antigona Trofor, C. R. Loghin – *Fumatul de la obicei la boală*
Ioan Costea – *Chirurgie*
Mircea Onofriescu – *Prelegeri de obstetrică şi ginecologie*
Gabriela Ifteni; Vasile Burlui – *Terapia protetică conjunctă unitară*
Gabriela Ifteni; Vasile Burlui – *Prepararea substructurii organice. Îndreptar practic*
Mihaela Cătălina Luca – *Boli infecțioase*
Carmen Mihaela Dorobăț – *Curs de boli infecțioase pentru studenții facultăților de medicină dentară*
Cipriana Ştefănescu, V. Rusus – *Biophysics and Medica Physics: An Introduction*
Cipriana Ştefănescu, V. Rusu – *De la fizica şi biofizica radiofarmacetuticelor la imagini funcționale şi moleculare*

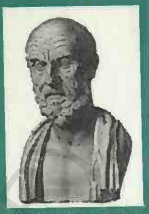
BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Tehnoredactor: Mircea Sechelea

Bun de tipar: decembrie 2007. Apărut: 2007
Retipărit: ianuarie 2009
Editura Tehnopress, str. Pinului nr. 1A, 700109 Iași
Tel./fax: 0232 260092
email: tehnopress@yahoo..com
www.tehnopress.ro

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

COMPENDIU DE GENETICĂ UMANĂ ȘI MEDICALĂ



ΙΠΠΟΚΡΑΤΗΣ

25

Lucrarea „**Compendiu de genetică umană şi medicală**" se adresează medicilor, farmaciştilor, biologilor şi, nu în ultimul rând, studenţilor care vor să-şi îmbunătăţească nivelul de cunoştinţe sau sunt la început de drum în descifrarea tainelor complexe ale geneticii umane normală şi patologică. Autorul a încercat să prezinte datele într-un mod sintetic, clar şi concis, astfel încât să uşureze procesul de înţelegere ale multiplelor faţete ale eredităţii şi variabilităţii umane. Sper ca demersul meu să-şi atingă scopul, dar singurii care vor putea proba acest lucru sunt cititorii acestei cărţi.

Şef lucr. dr. **Eusebiu Vlad Gorduza**

ISBN 973-702-492-3

9 789737 024923

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY